

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

E.A.P. DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

“Efecto Antibacteriano y Antifúngico comparativo de los extractos acuosos del Zea Mays L. (maíz morado), Rubus glaucus (mora andina); Opuntia soherensii (ayrampo) y Diseño de un gel de limpieza cutánea”

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTOR

Hersh Marco Polo Soto Huamaní.

ASESORES

Julio Reynaldo Ruiz Quiroz

Lima – Perú

2014

A mi mamá Carmen; por todo lo que hiciste
y haces por mí y mis hermanos, por el apoyo
ilimitado e incondicional que siempre me das,
y por las fuerzas que crecen en mí al recordar
tus consejos y alegría. Por siempre juntos.

A mi papá Juan, por todo el cariño y cuidado
que me ha ofrecido en toda mi vida.
Eres un gran trabajador y pasaran los años
y seguiré aprendiendo algo de ti.
Has estado con nosotros en buenos y malos
momentos y agradezco por darme tu apoyo.

A mis hermanos Ofelia y Juan Carlos,
que nuestra unión va mas allá de este
mundo; fuerza e inteligencia sus cualidades.
Siempre es bueno contar con su apoyo y
estoy orgulloso de ustedes. No hubiese
llegado a este logro si no estuviesen
conmigo.

A Milagros por su alegría y su permanente
apoyo; tus consejos me ayudan a superarme.
Una sonrisa en tu rostro significa mucho
para mí. Gracias por ser parte de mi vida.

A todas las personas que de una u otra
forma me ayudaron, me enseñaron mucho e
hicieron de mí una persona capaz de brindar
conocimientos y una buena amistad.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Américo Castro por su apoyo, confianza y comprensión para guiar mis ideas y convertirlas en un aporte a nuestra profesión.

Al Mg. Julio Ruiz Quiroz por aceptarme para realizar esta tesis bajo su dirección, y contar con su apoyo y sugerencias.

A la Q.F. Bertha Jurado por su gran ayuda.

A mis amigos colegas, José Moreno Ruiz y Aldo Álvarez Ochoa, gracias por el tiempo brindado y ayuda; me han demostrado el significado de la amistad.

A los miembros del jurado examinador y calificador Dr. Víctor Crispín Pérez, Mg. Raúl Soria López, Q.F. Carmen Lopez Flores y Dra. Norma Ramos Cevallos.

ÍNDICE

RESUMEN

SUMMARY

	PÁG
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Problema	3
1.2. Objetivos.....	3
1.2.1. Objetivo general	3
1.2.2. Objetivos específicos	3
II. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1. Antecedentes.....	4
2.1.1. Maíz morado (<i>Zea mays L.</i>).....	6
2.1.2. Mora andina (<i>Rubus glaucus B.</i>).....	10
2.1.3. Ayrampo (<i>Opuntia soherensii.</i>).....	16
2.2. Flavonoides	21
2.3. Actividad Antibacteriana de productos naturales	25
2.4. Tipos de Extracción	29
2.4.1. Extracción por maceración.....	29
2.4.2. Extracción por cocciones	30
2.5. Formas farmacéuticas de uso tópica.....	30
2.5.1. Pomadas propiamente dichas.....	30
2.5.2. Cremas.....	31
2.5.3. Pastas.....	31
2.5.4. Geles.....	31
2.6. Geles.....	32
2.6.1. Definición.....	32
2.6.2. Composición de los geles.....	32
2.6.3. Características.....	32
2.6.4. Ventajas.....	33
2.6.5. Mecanismo de formación de un gel.....	33
2.7. Estabilidad de medicamentos	34
2.6.1. Estabilidad.....	34
2.6.2. Estudios de Estabilidad.....	34
2.6.3. Motivos por los que se realiza un Estudio de Estabilidad.....	34
2.8. Variables	35
2.9. Hipótesis.....	35
III. PARTE EXPERIMENTAL.....	36
3.1. Materiales	36

3.1.1 Material botánico	36
3.1.2 Material biológico	36
3.2. Procedimiento experimental	36
3.2.1. Recolección e identificación del material botánico	36
3.2.2. Obtención de la muestra	37
3.2.3. Estudio fitoquímico	38
3.2.3.1. Ensayo de solubilidad	38
3.2.3.2. Ensayo fitoquímico	38
3.2.4. Identificación cromatográfica	39
3.2.5. Determinación de la actividad Antibacteriana y Antifúngica..	39
3.2.6. Formulación y diseño del gel de limpieza cutánea con el extracto de mejor actividad antibacteriana	42
3.2.6.1. Selección del tipo de gel o agente gelificante.....	42
3.2.6.2. Selección de excipientes	42
3.2.6.3. Establecimiento de la fórmula.....	43
3.2.6.4. Establecimiento del proceso de manufactura o preparación del gel	43
3.2.6.5. Establecimiento de especificaciones del producto del producto terminado	43
3.2.6.6. Incorporación del extracto seco	44
3.2.7. Determinación de la actividad antibacteriana del gel de limpieza cutánea con los extractos del <i>Rubus glaucus</i> (mora andina) y <i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) al 0.1%, 0.5% y 1% (P/Vol).....	44
3.2.7.1. Preparación de las muestras	44
3.2.7.2. Inoculación e Incubación ..	44
3.2.8. Determinación del sinergismo de la actividad antibacteriana de los geles con los extractos del <i>Rubus glaucus</i> (mora andina); <i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo).....	45
3.2.9. Ensayos de Estabilidad	45
3.2.9.1. Estabilidad preliminar	45
IV. RESULTADOS.....	47
4.1. Descripción de los extractos secos de los frutos empleados	47
4.2. Marcha fitoquímica	48
4.3. Ensayo cromatográfico en capa delgada.....	48
4.4. Determinación de la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos secos.....	49
4.4.1. Con las diluciones del extracto seco obtenido por extracción acuosa.....	49
4.4.2. Con las diluciones del extracto seco obtenido por extracción alcohólica.....	50
4.5. Pruebas de formulación.....	51
4.6. Establecimiento de la formulación.....	51
4.7. Preparación del gel	52
4.7.1. Flujograma del proceso	52
4.7.2. Procedimiento de la preparación del gel.....	52

4.7.3. Especificaciones del producto terminado.....	53
4.8. Determinación de la actividad antibacteriana del gel de limpieza cutánea con la adición de los extractos secos.	53
4.8.1. Gel con la adición del extracto seco obtenido por extracción acuosa.....	53
4.8.2. Gel con la adición del extracto seco obtenido por extracción alcohólica.....	54
4.9. Determinación del sinergismo de la actividad antibacteriana del gel de limpieza cutánea con la adición de los extractos secos	55
4.9.1. Gel con la adición de los extractos secos del <i>Rubus glaucus</i> (mora andina) y <i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) obtenido por extracción acuosa.....	55
4.9.2. Gel con la adición de los extractos secos del <i>Rubus glaucus</i> (mora andina) y <i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) obtenido por extracción alcohólica.....	55
4.10. Ensayo de Estabilidad	56
4.7.1. Prueba de Centrifugación.....	56
4.7.2. Prueba de Estabilidad preliminar.....	56
V. DISCUSIÓN.....	57
VI. CONCLUSIONES.....	61
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62
VIII. ANEXOS	67
8.1. Clasificación Botánica del Maíz morado (<i>Zea mays L.</i>).....	67
8.2. Clasificación Botánica del Ayrampo (<i>Opuntia soherensii.</i>)	68
8.3. Clasificación Botánica de la Mora andina (<i>Rubus glaucus B.</i>).....	69
8.4. Fotos del material biológico	70
8.5. Materiales de Laboratorio, equipos y reactivos	73
8.5.1. Materiales de laboratorio.....	73
8.5.2. Equipos.....	73
8.5.3. Reactivos.....	74
8.5.4. Medios.....	74
8.6. Entidades donde se desarrollo la investigación.....	75
8.7. Fotos de la Actividad Antibacteriana y Antifúngica	75
8.8. Fotos del gel base y Prueba de Extensibilidad.....	84
8.9. Relación de datos obtenidos en las pruebas para determinar la actividad antibacteriana	86
8.9.1. Con las diluciones del extracto seco obtenido por extracción acuosa.....	86
8.9.2. Con las diluciones del extracto seco obtenido por extracción alcohólica.....	87
8.9.3. Gel con la adición del extracto seco obtenido por extracción acuosa.....	88

8.9.4. Gel con la adición del extracto seco obtenido por extracción alcohólica.....	88
8.9.5. Gel con la adición de los extractos secos del <i>Rubus glaucus</i> (mora andina) y <i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) obtenido por extracción acuosa.....	89
8.9.6. Gel con la adición de los extractos secos del <i>Rubus glaucus</i> (mora andina) y <i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) obtenido por extracción alcohólica.....	89

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar la actividad antimicrobiana de los extractos de los frutos de *Zea Mays L.* (maíz morado), *Rubus glaucus* (mora) y *Opuntia soherensii* (ayrampo); y el diseñar un gel de limpieza cutánea a base de los extractos que contenga mejores resultados de inhibición de crecimiento bacteriano y fúngico. Los frutos del *Zea Mays L.* y *Rubus glaucus* fueron recolectados en el departamento de Lima, provincias de Canta y Huarochirí respectivamente; y los del *Opuntia soherensii* (ayrampo) fueron recolectados en el departamento de Ayacucho, provincia de Paucar del Sara Sara. El trabajo se desarrolló en dos etapas: obtención, caracterización y determinación de la actividad antimicrobiana de los extractos y el diseño, formulación, elaboración, caracterización, determinación de la actividad antimicrobiana de un gel de limpieza cutánea. Finalmente, se evaluó el sinergismo de la actividad antibacteriana de los extractos del *Opuntia soherensii* (ayrampo) y del *Rubus glaucus* (mora) incorporados en el gel base.

Los extractos fueron sometidos a un screening fitoquímico identificándose la presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, azúcares reductores. Asimismo, se determinó su actividad antibacteriana y antifúngica por el método de difusión en agar. Los extractos de los frutos se obtuvieron por dos tipos de extracción (una acuosa y la otra alcohólica). Los extractos obtenidos por extracción alcohólica de los frutos del *Rubus glaucus* (mora) y *Opuntia soherensii* (ayrampo) demostraron mejor actividad. La formulación del gel se realizó en base a la estabilidad y consistencia del producto. La adición de los extractos al gel base dieron resultados positivos, determinándose su actividad antibacteriana y antifúngica por el método de difusión en agar. Los mejores resultados se obtuvieron con el gel donde se incorporó el extracto seco (obtenido por extracción alcohólica) del *Opuntia soherensii* (ayrampo).

Palabras clave: *Zea Mays L.* (maíz Morado), *Rubus glaucus* (mora) y *Opuntia soherensii* (ayrampo), actividad antimicrobiana, gel.

SUMMARY

The present research work was to determine the antimicrobial activity of the extracts of the fruits of *Zea Mays L.* (purple corn), *Rubus glaucus* (blackberry) and *Opuntia soherensii* (ayrampo); and design a skin cleansing gel based extracts containing best results from inhibition of bacterial and fungal growth. The fruits of *Zea Mays L.* and *Rubus glaucus* were collected in the Department of Lima, Canta and Huarochirí provinces respectively; and *Opuntia soherensii* (ayrampo) were collected in the department of Ayacucho province of Paucar del Sara Sara. The work was developed in two stages: preparation, characterization and determination of antimicrobial activity of the extracts and design, formulation, processing, characterization, determination of antimicrobial activity of a skin cleansing gel. Finally, the synergism of the antibacterial activity of the extracts of *Opuntia soherensii* (ayrampo) and *Rubus glaucus* (mora) incorporated in the base gel was assessed.

The extracts were subjected to phytochemical screening identifying the presence of phenolic compounds , tannins, flavonoids , reducing sugars . Furthermore, its antibacterial and antifungal activity was determined by the agar diffusion method. Extracts of the fruits were obtained by two types of extraction (aqueous and other alcoholic). The extracts obtained by alcoholic extraction of the fruits of *Rubus glaucus* (blackberry) and *Opuntia soherensii* (ayrampo) showed better activity . The gel formulation was made based on the stability and consistency. The addition of the gel based extracts gave positive results, determining their antibacterial and antifungal activity by agar diffusion method. The best results were obtained with the gel where the dry extract (obtained by alcoholic extraction) of *Opuntia soherensii* (ayrampo) joined .

Keywords: *Zea mays L.* (maize Purple), *Rubus glaucus* (blackberry) and *Opuntia soherensii* (ayrampo) , antimicrobial activity, gel

I. INTRODUCCION

Actualmente, el surgimiento de nuevas patologías o enfermedades catalogadas como emergentes tienen una etiología infecciosa que incluyen enfermedades bacterianas, por tal motivo se ha incentivado la investigación intensiva dentro de los derivados vegetales, los cuales pueden ser efectivos especialmente para su uso en los países subdesarrollados con poco acceso a los medicamentos. Adicionalmente, la resistencia bacteriana a los antibióticos se ha convertido en un problema de salud grave y global, por lo tanto el aislamiento y caracterización de nuevos compuestos antimicrobianos es de gran interés para reducir y detener estos casos. Los extractos vegetales con acción antibacteriana podrían ser capaces de superar los mecanismos de resistencia actuales, por ello representan una importancia alternativa para su uso en el tratamiento de enfermedades infecciosas⁽¹⁾.

El maíz morado es una variedad pigmentada de *Zea mays L.*, cultivada en América latina, principalmente en Perú y Bolivia, donde se utiliza en la elaboración de bebidas, mazamorras y otros alimentos⁽²⁾; por muchos años en diferentes etnias nativas e incluso actualmente de forma vernacular ha sido empleado para el tratamiento complementario de muchas afecciones tales como la diabetes, infecciones del tracto urinario y digestivo, problemas cardiacos, inflamatorios y tratamiento de hepatitis⁽³⁾.

La mora andina o de castilla es el fruto del *Rubus glaucus*, planta originaria de las zonas altas y tropicales de América, encontrándose en Perú en zonas de suelo arcilloso. Las moras pueden ser procesadas e incluidas en la cocina, y a nivel industrial la incluyen en productos como yogures, tartas, licores, batidos, helados, gelatinas. En la zona cafetera se utiliza la mora para el tratamiento de enfermedades infecciosas intestinales y procesos infecciosos de la piel⁽⁴⁾. Frutas con colores fuertes como las uvas moradas, las cerezas y las moras contienen abundantes antocianinas (flavonoides); pigmentos naturales aceptados como colorante alimentario, éstos compuestos presentes en los frutos maduros de la

mora de andina mejora las características físicas de muchos productos; además de poseer propiedades antioxidantes^(5,6). Los beneficios de salud del *Rubus glaucus* más significativos se han atribuido a los compuestos fenólicos y vitamina C, potencialmente protectores contra las enfermedades cardiovasculares y el cáncer⁽⁷⁾.

El Opuntia soherensii (ayrampo) es una cactácea perenne, xerófila de tipo herbácea propia de las zonas templadas o cálidas. Esta planta se desarrolla muy bien en Ayacucho (sur del Perú) debido a su clima seco y variedad de pisos ecológicos, como también en los valles interandinos. Se ha determinado las características de la actividad antioxidante durante el proceso de atomizado, teniendo resultados que demuestran que a pesar del proceso tecnológico las betalainas conservaron parte de sus propiedades antioxidantes, por lo que sería apropiado considerar a dicho colorante como un ingrediente alimentario con propiedades de tipo funcional con potencial para neutralizar especies reactivas de oxígeno, las que se saben causan efectos deletéreos en macromoléculas como ADN, proteínas, lípidos, etc., siendo esto una de las principales causas de enfermedades degenerativas. En la medicina tradicional se considera la infusión de las semillas del ayrampo un agente complementario contra la candidiasis⁽⁸⁾.

En la industria farmacéutica es evidente la evolución por la incorporación al campo de la salud de nuevos medicamentos que tienen como objetivo mejorar el nivel y la calidad de vida de las personas, estimulando de tal forma la industrialización de plantas medicinales y el aprovechamiento al máximo de los recursos vegetales. Los productos elaborados a base de plantas tienen menos efectos secundarios y, en general causan menos reacciones adversas que los productos farmacéuticos, y su empleo en la atención médica primaria puede lograr que se hagan ahorros en las cuentas destinadas a la atención médica en el país⁽⁹⁾.

1.1. Problema

¿Cómo determinar la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos acuosos y etanólicos de los frutos del *Zea Mays L.* (Maíz Morado), *Rubus glaucus* (mora andina) y *Opuntia soherensii* (ayrampo)?

¿Cómo elaborar un gel de limpieza cutánea con el extracto que obtenga mayor actividad antibacteriana y antifúngica?

¿Cómo determinar la existencia de sinergismo de la actividad antibacteriana y antifúngica entre los extractos de mejor resultado?

1.2. Objetivos

1.2.1 Objetivo general

Determinar la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos de los frutos de *Zea Mays L.* (Maíz Morado), *Rubus glaucus* (mora), *Opuntia soherensii* (ayrampo) y diseñar un gel de limpieza cutánea con el extracto que demuestren mejor resultado de inhibición de crecimiento bacteriano y fúngico.

1.2.2 Objetivos específicos.

- Realizar el screening fitoquímico de los extractos de los frutos de *Zea Mays L.* (Maíz Morado), *Rubus glaucus* (mora) y *Opuntia soherensii* (ayrampo)
- Comparar la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos de los frutos de *Zea Mays L.* (Maíz Morado), *Rubus glaucus* (mora) y *Opuntia soherensii* (ayrampo) mediante el método de difusión en agar.
- Diseñar una forma farmacéutica tipo gel del extracto que demuestre mayor actividad antibacteriana y antifúngica.
- Determinar el efecto sinérgico de los extractos con mayor actividad antibacteriana y antifúngica incorporados en el gel por el método de difusión en agar.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES

2.1.1 Maíz morado (*Zea mays* L.)

Maíz morado, es la variedad morada del *Zea mays* L. nativa del Perú. Su cultivo tradicional se restringe a la antigua área de influencia Inca. El “maíz morado” es esencialmente una planta subtropical, se cultiva en los valles bajos de los Andes. Allí se le llama “Kculli” (voz quechua) y se está usando como alimento, desde hace milenios.

La línea Kculli es bastante antigua, se han encontrado objetos con la forma de esta mazorca en particular en sitios arqueológicos de al menos 2 500 años de antigüedad en zonas de la costa central del Perú, así como entre los cerámicos de la cultura Mochica. Esta forma de variedad de maíz ha venido siendo usada por la gente de los Andes para dar color a alimentos y bebidas, algo que el mundo industrializado recién está explotando.

Es de notar que al igual que muchas otras plantas, los frutos (en este caso la mazorca) en ocasiones reciben un nombre distinto a la planta que la produce.

En algunos países de Sudamérica, tanto la mazorca como los granos reciben el nombre de "choclo" (del quechua chuqllu). En Perú y Bolivia, lo llaman "sara", también de origen quechua⁽¹⁰⁾.

El grano o fruto del maíz según Takhtajan (1980), es un cariopse. La pared del ovario o pericarpio está fundida con la cubierta de la semilla o testa y ambas están combinadas conjuntamente para conformar la pared del fruto. El fruto maduro consiste de tres partes principales: la pared, el embrión diploide y el endosperma triploide. La parte más externa del endosperma en contacto con la pared del fruto es la capa de aleurona.

a. Clasificación botánica⁽¹¹⁾.

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida o Monocotiledónea

Subclase: Commelinidae

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Subfamilia: Panicoideae

Tribu: Andropogoneae

Género: *Zea*

Especie: *Zea mays L.*

b. Características Genéticas: Según Sevilla y Valdéz (1985)

Existe un gran número de variedades de maíz morado que se diferencian por la forma y tamaño de las mazorcas, por el número de hileras que varían de 8 a 12, por el tamaño, forma y color del pericarpio de los granos y por otras características morfológicas.

El color de la planta varia de verde a morado oscuro, pero la lígula de las hojas y de las anteras son invariables teniendo siempre un color oscuro.

La coloración morada que presentan las plantas, tuzas y pericarpio de los granos del maíz morado, son el resultado de la acción compleja de muchos genes localizados en distintos cromosomas, que producen pigmentos antociánicos de diferente color, los cuales en combinación producen el color morado (combinación de pigmentos rojos y azules).

La coloración se puede mantener de generación en generación, si se siembra en lotes aislados, semillas provenientes de plantas que presentan el color morado o púrpura, así como la mazorca o las glumas, y en especial el interior de las tuzas y los granos color morado intenso.

La única diferencia del maíz negro respecto al maíz morado, es el presentar en el interior de las tuzas o marlos la coloración casi blanca y no morado intenso⁽¹²⁾.

c. Variedades del *Zea mays* L.

Existen diferentes variedades de maíz morado todas derivadas de un línea más ancestral denominada "Kculli" aún cultivada en Perú, Bolivia y Argentina

Variedades: Hay diferentes variedades de Maiz morado, todas ellas proviene de una raza ancestral denominada "kculli" que todavía se cultiva en el Perú. Las formas más típicas están casi extintas. La raza Kculli es muy antigua, restos arqueológicos con mazorcas típicas de esta raza se han encontrado en Ica, Paracas, Nazca y otros lugares de la costa central cuya antigüedad se estima por lo menos en 2,500 años. También se encuentran mazorcas moldeadas, con las características de la raza, en la cerámica Mochica (Sevilla y Valdez, 1985).

Manrique (1997), refiere que Kculli es una de las cinco razas ancestrales de las que se han originado todas las demás, actualmente en existencia en el mundo. Presentan pocas razas que presentan pigmentos antociánicos en el grano y en la coronta.

En Sudamérica, donde se encuentran con mayor frecuencia, se encuentra el kculli de Bolivia, que es muy parecido al peruano, tanto en la morfología de la planta y mazorca, como en la intensidad de la coloración; el Negrito chileno, que tiene la mazorca más chica y los granos más delgados, aunque presenta más hileras de granos; el kculli argentino tiene mazorcas grandes y se diferencia de las otras razas similares de Sudamérica en que los granos son más duros.

Sevilla y Valdez (1985), describe las variedades tradicionales más conocidas:

- Morado Canteño: Derivada de la raza Cuzco, con características de mazorca muy similares a la raza Cuzco Morado, aunque de menores dimensiones. Es más precoz. Se cultiva en muchos lugares en la sierra del Perú, pero especialmente en las partes altas del valle del Chillón, en el departamento de Lima, hasta los 2,500 m.s.n.m. Es la variedad que más se consume en el mercado de Lima. Es una variedad nativa, altura de 1.8-2.5 m, floración a los 110-125 días.
- Morado Mejorado (derivados de Caraz): PVM-581, para siembra en sierra media; PVM-582, para costa central, altura cercana a los 2m, precocidad de floración masculina, 90 a 100 días.
- Morado Caraz: Variedad derivada de las razas Ancashino y Alazán. Recibe este nombre porque se cultiva en la localidad de Caraz, en el Callejón de Huaylas, en extensiones relativamente grandes. El maíz es más chico que las variedades de origen cuzqueño. Es de precocidad intermedia y tiene la ventaja que puede adaptarse también a la Costa. entre las variedades tradicionales es la que muestra mayor capacidad de rendimiento, y la que presenta la coronta mas pigmentada. Usado para siembra en sierra.
- Arequipeño (var. Tradicional) En las alturas de los departamentos de Arequipa se encuentra una variedad de granos dispuestos en hileras regulares en la mazorca. La forma de la mazorca es similar al Cuzco, pero más chica. El color de la tusa no es tan intenso como en otras variedades, presenta mucha variabilidad puede ser mejorado, es más precoz que los anteriores.
- Cuzco Morado: variedad relacionada a la raza Cuzco Gigante. Es tardía, granos grandes dispuestos en mazorcas de 8 hileras muy bien definidas. Se cultiva en diferentes lugares en zonas intermedias en altitud, en los departamentos de Cuzco y Apurímac.

- Negro de Junín: Se denomina así a una variedad precoz de granos negros, grandes, dispuestos irregularmente en una mazorca corta y redondeada. Es similar en forma a la raza San Jerónimo Huancavelicano. Se la encuentra en la Sierra centro y sur llegando hasta Arequipa, ocupando alturas mayores que otras variedades^(11,12).

d. Composición Química: Según Collazos (1962) y Fernández (1995).

La composición del maíz grano y coronta del maíz morado, se reporta en el siguiente cuadro:

Cuadro N°1. Composición química del Maíz morado (contenido en 100 gramos)⁽¹¹⁾.

COMPONENTE	MAÍZ GRANO (%)	CORONTA (%)
Humedad	11.40	11.20
Proteína	6.70	3.74
Grasa	1.50	0.32
Fibra	1.80	24.01
Cenizas	1.70	3.29
Carbohidratos	76.90	57.44

e. Usos y Subproductos^(11,12):

El maíz morado es usado a nivel casero como colorante natural para la "mazamorra morada" y la "chicha".

A nivel industrial se usa para obtener colorante de la coronta, debido a sus contenido de antocianinas. Dicho pigmento es usado a nivel industrial como insumo para la coloración de bebidas, productos lácteos, productos de panadería, productos vegetales, conservas de pescado, grasas, aceites, mermeladas, jaleas, frutas confitadas, frutas en almíbar, jarabes de frutas, sopas, almíbar; también se usa para teñir tejidos y en la industria de cosméticos.

El grano se puede aprovechar para la extracción de almidones y/o derivados o en la elaboración de alimentos balanceados para animales.

- Polvo colorante. El polvo de maíz morado es el producto de la molienda del maíz morado; tiene un fino tamaño de partícula que es en gramos para el tema comercial y alto contenido de antocianina. Generalmente se envasa en bolsas de polietileno de baja densidad.
- Antocianina⁽¹²⁾. La antocianina proveniente del maíz morado es un tipo de flavonoide complejo. Es un pigmento procesado y purificado que se obtiene de los granos, del polvillo y principalmente de la coronta.

Cuadro N°2. Porcentaje de antocianinas en el grano y la coronta del maíz morado.

Muestra	Antocianinas (mg de antocianinas/100 gr)	Rendimiento (%)
Coronta	610.998	79.47
Grano	51.935	6.75
Grano molido	157.841	20.53
Total	768.839	100.00

La antocianina es un antioxidante natural, anti-microbiano, que favorece la regeneración de los tejidos, mejora la actividad cardiaca, la circulación sanguínea, inhibe la síntesis del colesterol y promueve la formación de colágeno. También desintoxica el cuerpo de los agentes de la contaminación ambiental, desactiva sustancias cancerígenas, fortalece el sistema inmune y protege al cuerpo del desarrollo de enfermedades crónicas degenerativas como cataratas, artritis, tensión alta, diabetes, envejecimiento, arterosclerosis y enfermedades cardíacas, entre otras. El uso farmacéutico de las antocianinas es reconocido en oftalmología.

Este pigmento se encuentra en muchas frutas y vegetales; en el maíz morado, la mayor concentración se encuentra en la coronta.

2.1.2 Mora andina (*Rubus glaucus* B.)

El género *Rubus* es uno de los que tiene el mayor número de especies en el reino vegetal, se encuentran diseminadas en casi todo el mundo. Las especies más conocidas son *Rubus idaeus* (frambuesa), *Rubus glaucus Benth* (mora de castilla) y *Rubus folius* (zarzamora) (Casaca, 2005)⁽¹³⁾.

La mora andina tiene como centro de origen las zonas altas tropicales de América principalmente en Ecuador, Colombia, Panamá, Salvador, Honduras, Guatemala, México e inclusive los Estados Unidos. En Colombia se cultiva principalmente en la zona andina y las estribaciones de la Cordillera Occidental. El nombre de mora andina se originó en la época de la colonia, donde las familias nobles que se daban el lujo de consumir frutas, entre ellas la mora creían que procedían de Castilla España (ERAZO, 1998). Fue descubierta por Hartw y descrita por Benth, llamada rubus, en latín rojo y glaucus, que en latín significa blanquecina, debido al color del envés de sus hojas (ACERO, 1989).

La mora pertenece al grupo de las bayas; es perecedera, rica en vitamina C y con un alto contenido de agua. Originaria de las zonas altas tropicales de América⁽¹⁴⁾.

a. Botánica y descripción de la planta

Su posición taxonómica es:

Reino: Plantae

Clase: Dicotiledónea

Subclase: Arquiclamídea

Orden: Rosae

Familia: Rosaceae

Género: *Rubus*

Especie: *Rubus. glaucus* B.

La mora es una planta perenne, de porte arbustivo, semi erecta, tallos bienales, espinudos, cubiertos de un polvo blancuzo, semi erguidos, forman macollas, lampiños, con aguijones que se extienden hasta los peciolos y la nervadura central del envés de las hojas; emite constantemente brotes basales de longitud variable y que se pueden ramificar. Hojas alternas con tres folíolos, dos basales y uno terminal, bordes aserrados, de color verde en el haz y blanquecino en el envés. Las ramas florecen en racimos terminales que caducan una vez ocurrida la fructificación, algunas ramas se hacen procumbentes cayendo al suelo y produciendo enraizamiento de los ápices. Las flores son hermafroditas y actinomorfas de corola blanca, de 2 a 2.5 cm. de diámetro, cáliz con cinco sépalos verdes agudos y persistentes, corola con cinco pétalos blancos, rojos o lila, caedizos, periantio inserto en un receptáculo o hipantio, con estambres en su base y carpelos de 1 a 150 y ovario supero; la flor terminal de la inflorescencia es generalmente de mayor tamaño, la que se fecunda primero y desarrolla fruto más temprano.

Los frutos esféricos o elipsoidales, miden de 1 a 2.5 cm. de longitud; son de color rojo oscuro en la madurez, con sabor ácido y aromáticos.

El fruto es agregado, constituido por un conjunto de drupas succulentas (multidrupas) con una semilla en su interior; pueden ser circulares, cónicos o elípticos, su tamaño puede ser grande, mediano o pequeño, maduración dispareja debido a la posición en el racimo, presentan fructificación continua aunque se observan picos de producción a intervalos de 5 a 6 meses (Zapata, 2003). Cuando maduran, tienen un color que va de rojo a púrpura o rojo oscuro⁽¹⁵⁾.

Las semillas son pequeñas y suaves de forma ligeramente cuneiforme, superficie reticulada y tamaño variable, en general mide 5 milímetros de largo y 2 de ancho; su germinación es lenta debido a la dureza e impermeabilidad del endocarpo. Este es posiblemente el mejor de los *Rubus* de los trópicos americanos; de esta especie se conocen varios cultivares⁽¹⁴⁾.

b. Condiciones agroecológicas

El mejor desarrollo de la planta se presenta entre 1800 y 2400 metros de altura sobre el nivel del mar. Después de los 2400 metros los rendimientos son menores y disminuyen la calidad y tamaño de los frutos. Por debajo de 1800 metros se presentan también disminución severa del rendimiento por problemas de plagas y enfermedades, principalmente. El cultivo posee un mejor desarrollo con humedades relativas entre 70 y 80%, y Temperaturas promedio entre los 15°C y 19°C, la humedad es un factor que se encuentra ligado directamente al ataque por hongos cuando la humedad es superior a 80% (Zapata, 2003).

Las regiones que tienen precipitaciones (lluvias) entre 1500 y 2500 milímetros son las ideales para el cultivo de la mora, esta precipitación debe ser distribuida. Los periodos de menor lluvia coinciden con las épocas de producción y los de excesos de lluvia propician al ataque de hongos que afectan la producción (Landazuri, 2000).

El suelo ideal para el cultivo de la mora es el de textura franca rico en materia orgánica, que puede retener la humedad, pero que no forme charcos. La mora crece en suelos ácidos (pH ácido), pero se desarrolla mejor en suelos neutros de pH cercano al valor de 7; la planta requiere suelos profundos, y es exigente en nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio. (Landazuri, 2000)⁽¹⁶⁾.

c. Composición Química y Valor Nutricional

Las moras son fuente de fibra dietética, pectina, vitaminas C y E, minerales y polifenoles, éstos últimos tienen mucho interés debido a su actividad antioxidante. Factores como la variedad, la madurez, la forma de cosecha, etc., juegan un papel importante en la composición química y su capacidad antioxidante.

Esta fruta tiene un bajo poder calórico por su escaso aporte de carbohidratos, sin embargo, le caracteriza la presencia de los carotenoides y las antocianinas que le dan el color (Sánchez, 2004).

El cuadro a continuación presenta la caracterización química de la pulpa del fruto de la mora.

Cuadro N°3. Caracterización química de la pulpa del fruto de la mora⁽¹³⁾.

ANALISIS		PULPA "Fruta mora"
pH		2.82 ± 0.07
Acidez titulable (g/100 g ác. cítrico)*		2.47 ± 0.11
Sólidos solubles (°Brix)*		13.40 ± 0.53
Humedad (g/100 g)		84.15 ± 0.53
Cenizas (g/100 g)**		4.88 ± 0.03
Extracto etéreo (g/100 g)**		3.09 ± 0.06
Proteína (g/100 g)**		9.82 ± 0.21
Fibra (g/100 g)**		5.80 ± 0.12
Carbohidratos totales (g/100 g)**		76.38 ± 0.35
Azúcares totales (g/100 g) **		43.62 ± 2.87
Azúcares reductores (g/100 g)**		37.69 ± 1.67
Vitamina C (mg/100 g)**		117.16 ± 3.10
Polifenoles totales (mg/g)**		46.10 ± 0.47
Carotenoides totales (µg/g)**		5.70 ± 1.03
Minerales (µg/g)**	Calcio	2100
	Magnesio	2100
	Fósforo	2100
	Potasio	20400
	Sodio	500
	Hierro	23
	Zinc	55
	Manganeso	32
	Cobre	1

Media ± DS (n=3); * En base fresca; ** En base seca

Montalvo,2011

Las moras poseen cerca del 14% en sólidos, los cuales están equitativamente divididos entre formas solubles e insolubles. El tamaño del pireno y el desarrollo relativo de los tejidos suaves circundantes influye en la proporción de sólidos solubles e insolubles.

El sabor está determinado por el contenido de azúcares, ácidos y volátiles, los cuales varían de acuerdo con la variedad y las condiciones de crecimiento. El porcentaje de azúcares y ácidos representa un papel importante en la determinación del sabor.

Las variedades de los frutos del oeste de Norte América tienen un sabor más aromático que el de las variedades de los tipos europeos, y el fruto crece en áreas que tienen veranos cálidos y secos, poseen más azúcares y más aromáticos que los frutos que crecen en regiones húmedas y más templadas.

Los principales azúcares son glucosa y fructuosa y en menor cantidad de sacarosa; estas forman el principal componente soluble del jugo. Los ácidos más importantes son el ácido málico y el ácido isocítrico, y en menor proporción el ácido cítrico.

Los ácidos tienen una gran capacidad de nivelación, que mantiene el pH cerca de 3. La mejor medida de la cantidad de ácido presente es, por consiguiente, acidez titulable. A medida que avanza el desarrollo de la fruta, esta cantidad se incrementa en primera instancia y luego decrece mientras que comienza la maduración.

Cuando la acidez es menor a altas temperaturas, la relación de acidez-maduración, es tan cercana que es la mejor medida cuantitativa de la madurez del fruto.

El contenido de minerales que poseen las moras es poco, con la predominancia de Potasio y Calcio y tiene bajos contenidos de proteínas y polipéptidos, además de pocos aminoácidos^(14,15).

d. Usos y Subproductos:

La mora es una fruta altamente apreciada por su exquisito sabor y aroma, y por su color rojo oscuro cuando está madura. Su demanda en el mercado se debe a su uso como saborizante y componente de alimentos dulces. Esta fruta posee un aroma intenso y característico, el cual se compone de terpenoles (29%), ésteres

(24.8%), aldehídos (8.4%), ácidos (7.0%), hidrocarburos alifáticos (5.2%), cetonas (1.4%), e hidrocarburos aromáticos (0.6%), siendo los componentes mayoritarios el 2-heptanol, benzoato de etilo, trans-2-hexenal, 4-terpineol, ácido benzoico, y 2-hexenol. Se asume que el color rojo de la fruta se debe a pigmentos tipo antocianinas. Estos pigmentos naturales se caracterizan por sus coloraciones rojo-morado, propias de frutas como uvas, fresas, algunas variedades de naranjas, y frutas tipo baya, así como por su actividad antioxidante, que los hace atractivos para emplearlos como aditivos en alimentos procesados. Actualmente, se desarrollan estudios sobre la composición de las antocianinas presentes en esta fruta⁽¹⁷⁾.

La mora es utilizada para el mejoramiento del tránsito intestinal debido a sus cantidades de fibra, aportan además calcio, hierro, potasio, ácidos orgánicos y taninos de acción astringente.

Las cantidades de potasio que contiene ayudarán a la generación y transmisión del impulso nervioso así como también a personas con grandes actividades musculares. Contienen bajo contenido calórico por lo que pueden ser ingeridas en dietas⁽¹⁸⁾.

e. Actividad antibacteriana del género *Rubus*⁽¹⁹⁾:

Esta fue evidenciada en la especie *Rubus pinfaensis*. En 1994 se determinó la presencia de 5 tipos diferentes de componentes que demostraban actividad frente a las bacterias *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

2.1.3 Ayrampo (*Opuntia soherensii*)

a. Ayrampo.

Planta andina, medicinal.

Es una especie silvestre, originaria de los andes peruanos, en los departamentos de Ayacucho, Apurímac y Junín; sus frutos son comestibles (Pardo, 2002) y son utilizados para dar color a postres y refrescos, y para el teñido artesanal de fibras de lana⁽²⁰⁾.

Una variedad del género *Opuntia* muy similar a la tuna cuya característica principal es ser un cactus de no más de un metro de alto,

Es una planta herbácea pequeña, perenne, de tallos o pencas aplanadas, ovoidales; sus frutos son pequeñas bayas carnosas, que cuando están en el período de maduración son de color rojizo o vinoso, muy jugosos, de sabor ligeramente dulce, conteniendo muchas semillas ricas en materia colorante (Lock, 1997). Se desarrolla bien con temperaturas entre 12°C y 34°C, con un rango óptimo de 17°C a 23°C, y con una precipitación promedio entre 400 a 800 mm. Esta planta crece en suelos sueltos, arenosos, calcáreos en tierras marginales y poco fértiles, superficiales, pedregosos, caracterizándole una amplia tolerancia edáfica; sin embargo, los suelos altamente arcillosos y húmedos no son conveniente para su cultivo. Crece desde el nivel del mar hasta los 3000 m.s.n.m., alcanzando su mejor desarrollo entre los 1700 y 2500 m.s.n.m. (Sarmiento, 2003). su reproducción se efectúa por medio de semillas o por propagación agámica (asexual) o también denominada "propagación por pencas", este último es el más común y consiste en plantar o enterrar pencas (Medina y Romero, 2000). Respecto a las semillas o pepas secas de ayrampo (Cruz, 1985) menciona que el contenido de pepa en los frutos secos del ayrampo representa el 27.2% de peso total de muestra (pepa más pulpa). Además, cita que estas semillas se encuentran recubiertas por un tejido parenquimatoso que contiene el colorante, que representa el 3.5% de la muestra (pepa más pulpa)⁽⁸⁾.

b. Clasificación botánica

Reino: Plantae

División: Antofitas

Clase: Dicotiledóneas

Orden: Opuntiales Cactaceales

Familia: Cactáceas

Género: *Opuntia*

Especie: *Opuntia soherensii* (Britton & Rose)

c. Composición Química.

El fruto de las cactáceas posee un valor nutricional superior al de otras frutas en varios de sus componentes: 100 g de la parte comestible posee 58 a 66 unidades calóricas, 3 g de proteína, 0.20 µg de grasas, 15.5 g carbohidratos, 30 µg de calcio, 28 µg de fósforo y vitaminas (caroteno, niacina, tiamina, riboflavina y ácido ascórbico)⁽²⁰⁾.

Cuadro N°4. Composición química del fruto de Ayrampo por cada 100 g. de muestra húmeda⁽⁸⁾.

COMPOSICIÓN	CANTIDAD (g)
Agua	70.5 g
Grasas	1.2 g
Cenizas	1.5 g
Proteínas	8.9 g
Azucares	5.6 g
Fibra	12 g
Vit. B1	0.1 mg
Vit. B2	0.32 mg
Vit. C	10.34 mg

El ayrampo contiene betalaínas (metabolitos secundarios de las plantas nitrogenados que actúan como pigmentos rojos y amarillos). Las betalaínas son pigmentos hidrosolubles con buenas características tecnológicas para ser utilizados en productos lácteos, bebidas, confitería y helados, ya que imparten coloraciones que van del rojo al amarillo. Además su uso está aprobado desde 1960 por la FDA y en México la Secretaría de Salud permite su aplicación en alimentos y cosméticos.

d. Usos Medicinales^(8,20).

Algunas de las versiones existentes del ayrampo, en cuanto a su uso medicinal, el ayrampo corresponde a la categoría de remedio fresco, se emplea para calmar la fiebre, al alivio de la conjuntivitis e incluso para la cura del sarampión y la escarlatina.

Son preparadas como agua de tiempo, en algunos casos se emplean solo las semillas, de igual manera preparado bien frío es utilizada para el lavado de ojos en caso de conjuntivitis, a la que la suelen llamar mal de ojo, además es utilizada para curar úlceras en la boca (aftas). A la infusión con que se la prepara, se le agrega media cucharadita de carbón de leña bien molido.

Por otro lado el tratamiento de hernia, hígado irritado, úlceras estomacales y erisipela, utilizaban la raíz. El mucilago o baba del nopal servía para manos y labios partidos. Las pencas mitigan el dolor y curan inflamaciones. La pulpa de las tunas servía para la diarrea. La savia del nopal, contra las fiebres malignas. Las espinas fueron usadas en la limpieza de infecciones.

Existen también trabajos de investigación del efecto del extracto de nopal sobre lípidos y lipoproteínas en hipercolisterolemia moderada, donde se destaca el consumo de nopal (*Opuntia fuliginosa*) disminuye notablemente el colesterol de LDL en roedores alimentados con dietas altas en colesterol; del mismo modo se realizó trabajos de control de diabetes por consumo de frutas de cáctaceas donde se sugiere que el consumo de esta planta es útil para mejorar un control de Diabetes mellitus tipo 2 (DM-2).

El ayrampo contiene altos porcentajes de betalaínas cuya actividad antioxidante es vinculada con la actividad anticancerígena; hay evidencia creciente de una poderosa actividad del fruto de ayrampo.

La actividad antioxidante también fue comprobada sobre tumores de ovario, cervicales y vejiga in vitro e in vivo en ratones con cáncer de ovario con un extracto de fruto de cactus (*Opuntia*) a la cual contribuirían las betalaínas como principios activos más importantes.

e. Usos Industriales

El color es uno de los aspectos importantes a considerar en cualquier alimento para lograr su aceptación por el consumidor relacionándolo con el sabor y frescura del producto. Ante la creciente necesidad mundial de usar colorantes de origen natural, se presenta en el ayrampo una posibilidad de importante para las zonas yungas y quechua de la sierra peruana como producto de agro exportación.

Además, los tejidos y mantos andinos que son elaborados de múltiples colores por los pobladores de la sierra, las tiñen principalmente empleando diversas partes de plantas de forma natural, entre estas plantas se encuentra el ayrampo “... *también es frecuente la Opuntia soehrensi de cuya tuna se saca el ayrampu con que los indígenas tiñen la lana desde tiempos inmemoriales*”⁽²¹⁾.

En México existen diversos productos a base de nopal: shampoo, enjuagues capilares, crema para manos y cuerpo, jabón, acondicionador, mascarilla humectante, gel para el cabello, gel reductor, gel para la ducha, loción astringente, mascarilla limpiadora, pomada y cosméticos, sombras para ojos, rubor, lápiz labial, labial con cochinilla⁽⁸⁾.

f. Las betalaínas en el género *Opuntia*.

Son innegables los beneficios que acarrea a la salud humana el mantener una dieta elevada en frutas y verduras, beneficios que se atribuyen principalmente al poder antioxidante de los fitoquímicos contenidos en estos alimentos, entre los cuales destacan los compuestos fenólicos ampliamente distribuidos en el reino

vegetal. Las betalaínas también son fitoquímicos considerados como potentes antioxidantes, sin embargo su presencia está restringida a solamente algunas familias de plantas relacionadas con el orden Caryophyllales, dentro de la cual destacan los géneros *Beta*, *Amaranthus*, *Opuntia* e *Hylocereus*.

En los últimos años han proliferado los estudios sobre las betalaínas y sus propiedades en varias especies de los géneros *Opuntia* e *Hylocereus*. El género *Stenocereus* ha sido menos estudiado, no obstante que se caracteriza, al igual que *Opuntia* e *Hylocereus*, por producir frutos jugosos con pulpa de atractivos colores.

Uno de los factores del color característico de frutos del género *Opuntia* se debe a las betalaínas, pigmentos naturales hidrosolubles con nitrógeno en su estructura que se sintetizan a partir del aminoácido tirosina. Además de dar coloración a los frutos que las contienen y poseer actividad antioxidante, las betalaínas son reconocidas por otras importantes actividades biológicas, tales como la inducción de la quinona reductasa, potente enzima de detoxificación en la quimio prevención del cáncer, y su actividad antiproliferativa de células de melanoma maligno.

Los frutos que contienen betalaínas también poseen fenoles de diferentes tipos, excepto antocianinas, pues estas dos clases de pigmentos son mutuamente excluyentes. En algunas especies el contenido de fenoles es mayor que el de betalaínas, y en otras es lo contrario. En varias especies del género *Opuntia* los valores de fenoles totales fueron mayores que los de betalaínas^(8,22).

2.2. FLAVONOIDES

Los pigmentos flavonoides, uno de los grupos más numerosos y ampliamente distribuidos de constituyentes naturales, conocidos algunas veces como antoxantinas; comprenden un grupo amplio de compuestos polifenólicos que aparecen de forma espontánea en casi todas las plantas superiores. Desde un punto de vista químico están constituidos por dos anillos aromáticos conectados entre sí por una cadena de tres átomos de carbono, que generalmente constituyen un anillo heterocíclico con diferentes grados de oxidación.

Los flavonoides se clasifican en distintas clases en función de su estructura química, incluyendo flavonoles, flavonas, flavanonas, catequinas, isoflavonas, antocianidinas, dihidroflavonoles, auronas y chalconas (Figura. 1)⁽²³⁾.

Las diferentes modificaciones químicas que tienen lugar dentro de cada una de estas clases, tales como hidrogenaciones químicas, hidroxilaciones, sulfuraciones, metilaciones, acetilaciones, así como la incorporación de distintos restos azucarados, dan lugar a la gran diversidad de flavonoides que se pueden encontrar en la naturaleza, habiéndose descrito hasta el momento más de 5000 flavonoides diferentes^(23,24).

Los flavonoides se encuentran generalmente en mezclas como agliconas y/o glicósidos, aún de las diferentes clases siendo esto último más común; en muchos casos debido a la complejidad de la mezcla es más frecuente el estudio de estos compuestos en forma de agliconas en extractos de plantas previamente hidrolizados. Se hallan presentes en todas las partes de las plantas, algunas clases se encuentran más ampliamente distribuidas que otras, siendo más comunes las flavonas y flavonoles, y más restringidas en su ocurrencia las isoflavonas, las chalconas y auronas.

Como características generales de estos compuestos debemos señalar su solubilidad en agua y en etanol, su carácter fenólico y su intensa absorción en la región ultravioleta y visible del espectro debido a la presencia de sistemas aromáticos conjugados. Una clasificación preliminar del tipo de flavonoide en un

extracto de planta, puede hacerse basado inicialmente, en un estudio de sus propiedades de solubilidad y de comportamiento ante reacciones de color; ésto seguido por un examen cromatográfico directamente del extracto y/o del extracto hidrolizado. La separación puede hacerse por procedimientos cromatográficos, y la identificación de los componentes individuales por comparaciones cromatográficas y espectroscópicas con compuestos estándar o con la literatura. Compuestos nuevos requieren exámenes químicos y espectroscópicos más detallados.

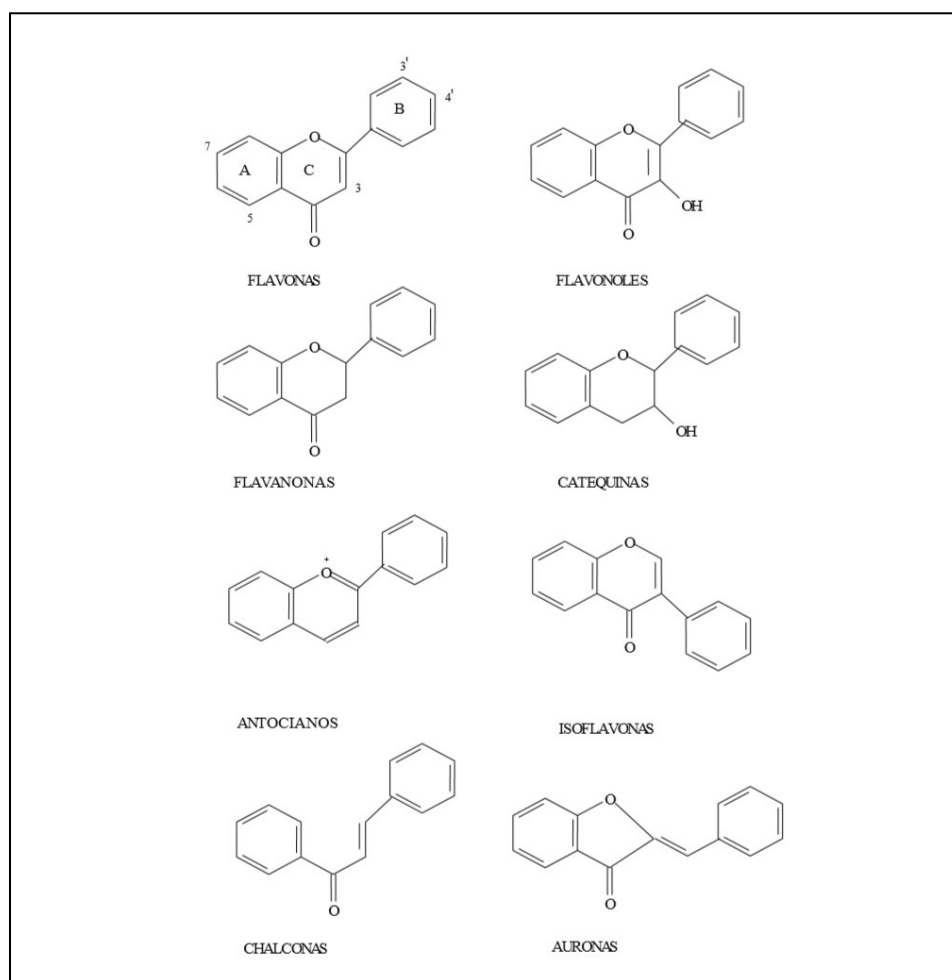


Figura N°1. Estructuras químicas generales de los distintos grupos de flavonoides.⁽²³⁾.

Los flavonoides se emplearon durante mucho tiempo como colorantes de lana, y actualmente se usan en la conservación de grasas o jugos de frutas debido a las propiedades antioxidantes de algunas polihidroxiflavonas. Entre otras

aplicaciones, mencionaremos la de los glucósidos de hidrochalconas como edulcorantes, de la rotenona como insecticida, etc.

La acción farmacológica es también extensa y variada, bien conocidas son sus actividades contra la fragilidad capilar (bioflavonoides del género *Citrus*: rutina y derivados), dilatadores de las coronarias (proantocianidinas de *Crataegus*, *Arnica* y *Gingko*), espasmolítica (glicósidos de apigenina), antihepatotóxica (silimarina de *Silybum*), colerética, estrógena y diurética. Se destaca asimismo la actividad antimicrobiana de flavonoides prenilados y otros fenoles y la acción fungitóxica de isoflavonas, como las de algunas especies de *Lupinus*⁽²⁵⁾.

La presencia generalizada de los flavonoides en frutas, verduras, frutos secos, semillas, flores y cortezas así como en bebidas tales como el té o el vino tinto, implican su consumo regular en una dieta normal. Además de estar presentes en los alimentos, estos compuestos constituyen los principios activos de numerosas plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de distintas patologías que afectan numerosos sistemas orgánicos, como el aparato digestivo, el aparato urinario, el sistema cardiovascular, el sistema nervioso o central o la piel.

Numerosos estudios describen los distintos efectos biológicos atribuidos a los flavonoides incluyendo la actividad antibacteriana, antifúngica, antiviral, antiinflamatoria, antipirético, espasmolítica, vasodilatadora, antihipertensivo, antiagregante plaquetaria, citotóxica, antialérgica, anticancerígena, vasoprotectora, antioxidante, inhibición del crecimiento de tumores, protectores de la mucosa gástrica, entre otras. Estos efectos se han atribuido a su influencia sobre el metabolismo del ácido araquidónico y se relacionan principalmente con dos de las actividades biológicas que los caracterizan y que han sido ampliamente descritas en numerosos trabajos de investigación:

- a) Propiedades antioxidantes y/o captadores de radicales libres.
- b) Capacidad de interferir con la actividad de distintos sistemas enzimáticos^(23,26).

También existen algunas evidencias que los consumidores de vinos rojos y vino tinto presentan baja mortalidad por enfermedad coronaria, y que ello se debe a los compuestos fenólicos presentes, entre los cuales están los flavonoides catequina, epicatequina y quercetina. Las procianidinas presentes en las uvas tienen uso potencial en isquemias cardíacas. La soya contiene isoflavonoides antiestrogénicos y antimutagénicos. *Artemisia vulgaris* contiene flavonoides estrogénicos. También se han reportado flavonoides que inhiben la agregación plaquetaria, con acción vasodilatadora (naringenina, eriodictyol y luteolina), con acción antiarrítmica, chalconas con acción antimicótica, antibacteriana, citotóxica y antimitótica, la 3-ramnosilquercetina presenta actividad antidiarréica y antialérgica, flavonoles con actividad antiespasmolítica, isoflavonas y flavanonas antimicóticas, isoflavanos y flavanonas antimicrobianos y flavanos con actividad leishmanicida. Varios glicósidos del kaemferol, la quercetina y la miricetina inhiben la infección por el virus VIH-1. Flavonoides como la quercetina, flavona, catequina y crisina parecen desempeñar un papel importante contra la acción de la morfina. Las antocianinas por sus características se han sugerido como colorantes de alimentos. Además se ha informado el uso potencial de ciertos flavonoides en cosméticos⁽²⁷⁾.

Técnica de Extracción.

Los solventes empleados en la extracción de estos compuestos son muy variados y pueden ser desde muy polares como agua y etanol para glicósidos o agliconas muy hidroxiladas, hasta menos polares como éter y cloroformo para flavonas altamente metoxiladas. Es recomendable emplear una sucesión de dos o más solventes, usualmente en el orden de lipofílico a hidrofílico; ejemplo: éter de petróleo, benceno, éter etílico, acetato de etilo, alcoholes y finalmente agua, aunque en este último caso se presenta desventaja de su alto punto de ebullición y presión de vapor que dificultan luego el ser removido rápida y completamente del extracto; por otro lado, podrían ser extraídos otros compuestos de alto peso molecular que usualmente interfieren en las subsiguientes etapas de purificación del flavonoide⁽²⁵⁾.

2.3. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE PRODUCTOS NATURALES.

Existe una urgente y continua necesidad de descubrir nuevos compuestos antimicrobianos con diversas estructuras químicas, ya que uno de los grandes problemas que enfrentamos actualmente, es el desarrollo de resistencia bacteriana a los antibióticos, ante lo cual los extractos vegetales con acción antibacteriana podrían ser capaces de burlar los mecanismo de resistencia actuales, por ello representan una importante alternativa para su uso en el tratamiento de enfermedades infecciosas⁽¹⁾. Uno de los mecanismos para la inducción de la resistencia es la presión selectiva a la que se someten las bacterias, pero como el uso de extractos vegetales es limitado, las bacterias no han desarrollado mecanismos de resistencia en su contra. Entonces es posible que lo extractos vegetales y aceites esenciales puedan inhibir el crecimiento de cepas resistentes y multirresistentes⁽²⁸⁾.

Las plantas tienen una capacidad casi ilimitada para sintetizar sustancias aromáticas, la mayoría de los cuales son los fenoles o de sus derivados sustituidos con oxígeno. La mayoría son metabolitos secundarios de los cuales al menos 12.000 se han aislado, menos del 10% del total. En muchos casos , estas sustancias sirven como mecanismos de defensa de las plantas contra la depredación por microorganismos, insectos y herbívoros. Algunos, como los terpenos, dan a las plantas sus olores, mientras que otros (quinonas y taninos) son responsables de pigmento de las plantas. Muchos compuestos son los responsables para el sabor de la planta (por ejemplo, la capsaicina), y algunas de las mismas hierbas y especias utilizadas por los seres humanos por sus propiedades medicinales⁽²⁹⁾.

Las especias son reconocidas por estabilizar los alimentos frente al deterioro microbiano. Esto puede ser observado cuando las especias muestran inicialmente una alta carga microbiana y con el transcurrir del tiempo el crecimiento microbiano se vuelve progresivamente más lento o totalmente suprimido dicha actividad depende de varios factores, que incluyen:

- El tipo de especias.
- Composición y concentración de las especias.
- Especie microbiana y su nivel de incidencia.
- Composición del sustrato.
- Condiciones de transformación y almacenamiento.

El mecanismo exacto de acción antibacteriana de las especias, y sus derivados aún no está claro. Aunque algunas hipótesis han sido dadas, las cuales implican:

- Interacciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno de los compuestos fenólicos a las proteínas de membrana, seguido de la partición en la bicapa lipídica.
- Alteración de la permeabilidad de la membrana consecuente a su expansión y mayor fluidez causando la inhibición de las enzimas incrustadas de la membrana.
- Interrupción de la membrana.
- La destrucción del sistema de transporte de electrones.
- La perturbación de la pared celular.

Generalmente, las bacterias Gram-negativas han sido reportadas de ser más resistentes que las bacterias Gram-positivas a los aceites esenciales de efecto antimicrobiano, debido a los lipopolisacáridos de su pared celular que pueden evitar que los compuestos activos lleguen a la membrana citoplasmática de bacterias Gram-negativas⁽³⁰⁾.

Tabla 1. Las principales clases de compuestos antimicrobianos de las plantas⁽²⁹⁾.

Clase	Subclase	Ejemplo(s)	Mecanismo
Fenólicos	Fenoles simples	Catecol	Privación del sustrato
		Epicatequina	Destrucción de la membrana
	Ácidos Fenólicos	Ácido Cinámico	
	Quinonas	Hipericina	Enlazar adhesinas formando complejos con la pared, inactiva enzimas.
	Flavonoides	Crisina	Enlazar adhesinas
	Flavonas	Abyssinone	Formar Complejos con la pared celular
			Inactiva enzimas
			Inhibir la transcriptasa inversa del VIH
	Flavonoles	Totarol	
	Taninos	Elagitanino	Une a las proteínas
			Enlazar adhesinas
			Inhibición de enzimas
			Privación del sustrato
			Formar Complejos con la pared celular
Terpenos, aceites esenciales		Capsaicina	Destrucción de la membrana
Alcaloides		Berberina	Intercalarse en la pared celular y / o ADN
		Piperina	
Lectinas y polipéptidos		Manosa específica - Aglutinina	Bloquea la fusión viral o adsorción
		Fabatin	Forma puentes disulfuro.
Poliacetilenos		8S-Heptadeca-2(Z),9(Z)-dieno-4,6-diino-1,8-diol	

Actividad antimicrobiana de las flavonas, flavonoides y flavonoles⁽²⁹⁾.

Las flavonas son estructuras fenólicas que contienen un grupo carbonilo (a diferencia de los dos carbonilos en quinonas). La adición de un grupo 3 - hidroxilo produce un flavonol. Los flavonoides también son hidroxilados de sustancias fenólicas, pero se producen como una unidad de C6 - C3 vinculado a un anillo aromático. Desde que se sabe que están sintetizados por las plantas en respuesta a la infección microbiana, no debería ser sorprendente que se han encontrado *in vitro* para ser sustancias antimicrobianas eficaces contra una amplia gama de microorganismos. Su actividad es probablemente debido a su capacidad para formar complejos con proteínas extracelulares y solubles y para formar complejos

con las paredes celulares bacterianas. Más flavonoides lipofílicas también pueden romper las membranas microbianas.

Las catequinas, la forma más reducida de la unidad C3 de los compuestos flavonoides, merecen una mención especial. Estos flavonoides han sido ampliamente investigado por su ocurrencia en el té Oolong o té verde. Se observó hace algún tiempo que los té ejercieron una actividad antimicrobiana y que contienen una mezcla de compuestos de catequina . Estos compuestos inhibieron *in vitro* el *Vibrio cholerae* O1, *Streptococcus mutans*, *Shigella*, y otras bacterias y microorganismos.

Las catequinas inactivan la toxina del *Vibrio cholerae* y inhiben las glucosiltransferasas bacterianas aisladas en *S. mutans*, posiblemente debido a las actividades para formar complejos. Esta última actividad se confirma en ensayos *in vivo* de ratas convencionales. Cuando las ratas fueron alimentadas con una dieta que contenía un 0,1% de catequinas del té, caries de fisura (causada por *S. mutans*) se redujo en un 40%.

Compuestos de flavonoides presentan efectos inhibidores contra múltiples virus. Numerosos estudios han documentado la eficacia de los flavonoides tales como la glicirricina (de regaliz), y la crisina contra el VIH. Más de un estudio ha encontrado que los derivados de flavona son inhibitorios para el virus sincitial respiratorio. En un resumen de las actividades y los modos de acción de la quercetina, naringina, hesperidina y catequina en *in vitro*, monocapas de cultivo celular; mientras la naringina no era inhibidora para virus herpes simplex tipo 1 (HSV - 1), virus de la polio tipo 1, virus paragripal de tipo 3, o RSV, los otros tres flavonoides eran eficaces de diversas maneras. Hesperidina redujo la replicación intracelular de los cuatro virus; catequina inhibe la infectividad pero no la replicación intracelular de VRS y el HSV- 1, y la quercetina fue universalmente eficaz en la reducción de la infectividad. Los autores proponen que las pequeñas diferencias estructurales en los compuestos son esenciales para su actividad y señaló otra de las ventajas de

muchos derivados de plantas: su bajo potencial tóxico. La dieta media diaria occidental contiene aproximadamente 1 g de flavonoides mixtos; concentraciones farmacológicamente activas que no son susceptibles de perjudicar a los anfitriones humanos.

Isoflavona que se encuentra en una leguminosa del África Occidental, previene la infección esquistosomiasis cuando se aplica vía tópica. Floretina, se encuentra en ciertos serotipos de las manzanas, puede tener actividad contra una variedad de microorganismos. Galangin (3,5,7 - trihidroxiflavona), derivado de las *Helichrysum aureonitens* hierba perenne, parece ser un compuesto particularmente útil ya que ha mostrado actividad contra una amplia gama de bacterias gram-positivas, así como hongos y virus, en particular, tipo de virus HSV - 1 y virus de Cocksackie B1.

La delimitación de los posibles mecanismos de acción de las flavonas y flavonoides se ve obstaculizada por los hallazgos contradictorios. Los flavonoides que carecen de grupos hidroxilo en sus β -anillos son más activos contra los microorganismos que son los que tienen los grupos- OH; este hallazgo apoya la idea de que su objetivo es la membrana microbiana. Sin embargo, varios autores han encontrado también el efecto contrario, es decir, a más hidroxilación, mayor es la actividad antimicrobiana. Por lo tanto, es seguro decir que no hay previsibilidad clara para el grado de hidroxilación y la toxicidad para los microorganismos.

2.4. TIPOS DE EXTRACCIÓN⁽¹²⁾.

2.4.1 Extracción por Maceración.

Esta extracción es sencilla. Se somete únicamente a la disolución del soluto en un solvente, dejando reposar hasta que el solvente penetre en la estructura celular, los ablande y disuelva las porciones solubles, controlando convenientemente la temperatura y la duración del proceso. Se recomienda que la maceración se realice a una temperatura de 15°C - 20°C. Si el tiempo de maceración es muy

prolongado debe usarse conservadores para evitar alteraciones microbianas. La ventaja de esta extracción es producir un extracto con una concentración uniforme, sin embargo resulta laborioso, ya para conseguir mejor rendimiento se requiere de mayor tiempo de extracción.

2.4.2 Extracción por cocciones.

Los cocimientos son preparados líquidos que se confeccionan hirviendo con agua las sustancias vegetales. Las muestras se colocan en un recipiente de vidrio, se agrega el solvente y se somete a ebullición por diferentes tiempos. La temperatura de extracción debe ser tal que no afecte a la estructura del colorante.

Para ambos tipos de extracción explicados, la muestra de haber sido sometida a un proceso (Ejm. molienda) de aumento de la superficie de contacto interfacial entre el soluto y solvente, permitiendo una mayor acción enzimática y por lo tanto, aumento de la extracción.

2.5. FORMAS FARMACÉUTICAS DE USO TÓPICO

2.5.1. Pomadas propiamente dichas⁽³¹⁾.

Constan de un excipiente de una sola fase en el que se pueden dispersar sólidos o líquidos. Están constituidas por preparados hidrófobos (lipogeles), absorbentes de agua o hidrófilas.

- Lipogeles: Son vehículos oleosos, oclusivos (denominado “emoliente” en términos dermatológicos), de muy diversa consistencia. No pueden absorber más que pequeñas cantidades de agua.
- Bases de absorción: Pueden absorber grandes cantidades de agua en forma de emulsión W/O dando lugar a preparados que una vez aplicados en la piel, la engrasan, pero de tal forma que la transpiración cutánea es menos impedida que cuando se utilizan bases hidrófobas; están constituidos por vehículos lipófilos adicionados de un emulgente W/O.

- Hidrófilas: se elaboran con excipientes miscibles en agua, tales como los polietilenglicoles líquidos y sólidos (macrogeles).

2.5.2. Cremas^(31,32)

Son preparados multifásicos, constituidos por dos fases, una lipófila y otra acuosa; estructurados en forma de emulsión W/O u O/W. La utilización de este tipo de vehículo permite obtener preparados de muy diversos grados de oclusividad y consistencia; además, las emulsiones permiten poner en contacto con la piel simultáneamente el principio activo lipo e hidrosoluble, englobados cada uno de ellos en la fase de la emulsión por la que poseen mayor afinidad.

- Cremas W/O (hidrófobas): La fase continua o externa es la fase lipófila debido a la presencia en su composición de emulgentes tipo W/O. Su consistencia es variable y depende de los componentes de ambas fases, de la proporción de éstos en la fórmula y de la técnica empleada para la emulsificación. Se les denomina cremas grasas, debido a la sensación untuosa que poseen; son cremas lubricante y emolientes.
- Cremas O/W (hidrófila): La fase externa es de naturaleza acuosa debido a la presencia en su composición de emulgentes tipo O/W. son preparados lavables, adherentes a la piel y tienden a desvanecerse una vez aplicados debido a la evaporación de su contenido acuoso. El poder emoliente de estas cremas suele ser bajo.

2.5.3. Pastas⁽³²⁾.

Preparados polifásicos con un alto porcentaje de polvos dispersados en excipientes lipofílicos (pastas grasas) o hidrófilos (pastas acuosas), su consistencia es bastante elevada.

2.5.4. Geles⁽³²⁾.

Coloides transparentes; sistema de dos componentes, rico en líquido, de naturaleza semisólida.

- Hidrófobos (oleogeles): están constituidos por excipientes de tipo aceite gelificado.
- Hidrófilos (hidrogeles): son geles constituidos por agua u otros líquidos hidrófilos que se gelifican con el producto adecuado.

2.6. GELES⁽³³⁾.

2.6.1. Definición.

Son sistemas dispersos, obtenidos a partir de sustancias de naturaleza coloidal (fase dispersa) y un solvente (fase continua).

También pueden definirse como coloides de forma gelatinosa que resultan de la coagulación, precipitación o floculación de una solución coloidal, donde las partículas sólidas, forman puentes que poseen cierta fuerza mecánica.

Soluciones coloidales son aquellas que contienen partículas diminutas suspendidas formando la fase dispersa, y un solvente que constituye la fase continua.

2.6.2. Composición de los geles.

Los geles llevan en su composición:

- Un solvente de naturaleza variada: acuoso, hidroalcohólico, oleoso.
- Un polímero gelificante.
- Una base neutralizante o un acidificante, solo cuando sea necesario.

2.6.3. Características.

Pueden presentar consistencia sólida o semisólida. Muchos geles, fluidifican por agitación y al dejarlos en reposo un tiempo, recobran su estructura de gel. Este fenómeno se conoce con el nombre de Tixotropía.

Son elásticos. Es decir, presentan la capacidad de recuperar su forma inicial tras una deformación ocasionada por la aplicación de una fuerza.

Los grupos hidroxilo y amino presentes en las moléculas de algunos polímeros gelificantes, tienden a formar puentes de hidrógeno con el agua de la disolución.

Dan lugar a la formación de películas.

2.6.4. Ventajas.

- Son transparentes, si bien la transparencia varía según el polímero utilizado.
- Tienen propiedades emulgentes.
- Pueden utilizarse como agentes espesantes, suspensores y estabilizantes.
- Dan lugar a la formación de películas.
- Generalmente son bien tolerados y fácilmente lavables.

2.6.5. Mecanismo de formación de un Gel⁽⁹⁾.

Los productos gelificantes se pueden agrupar del siguiente modo:

- Polímeros que dan lugar a un gel dependiente del pH del medio.
- Polímeros que dan lugar a un gel por sí mismo, independiente del pH del medio.

Los primeros dan lugar a soluciones ácidas que al neutralizar con las bases adecuadas, aumentan la viscosidad y disminuyen la turbidez del medio. El mecanismo por el cual se forma el gel es el siguiente: a bajos valores de pH, se disocia una pequeña proporción de grupos carboxílicos del polímero, formando una espiral flexible. La adición de una base produce la disociación de grupos carboxílicos, ionizándose, creando repulsión electrostática entre las regiones cargadas, expandiéndose la molécula, haciendo más rígido el sistema, gelificándolo. Se pasa de una estructura espiralada a una desarrollada o extendida, ejemplo Carbomer. Si se agrega un exceso de base puede producir una pérdida de viscosidad al neutralizarse los grupos carboxílicos.

2.7. ESTABILIDAD DE MEDICAMENTOS⁽⁹⁾.

2.7.1. Estabilidad. Se la define como la extensión o el tiempo durante el cual un producto mantiene dentro de unos límites específicos y a través del periodo de almacenamiento y uso, las mismas propiedades y características que poseía en el momento de la fabricación, esto es, sus características físicas, químicas, microbiológicas y biológicas.

2.7.2. Estudios de Estabilidad. Pruebas que se efectúan a un medicamento para determinar el período de caducidad y las condiciones de almacenamiento en que sus características físicas, químicas, microbiológicas permanecen dentro de límites especificados, bajo la influencia de diversos factores ambientales como temperatura, humedad y luz.

2.7.3. Motivos por los que se realiza un Estudio de Estabilidad.

- **Razones Legales.** Este es un requisito establecido por las autoridades de salud para establecer el periodo de vida útil del producto farmacéutico.
- **Razón Sanitaria.** Es necesario realizar este estudio, porque los productos de degradación del principio activo excipientes no siempre suelen ser inocuos.
- **Razones Económicas.** Si el producto sufre degradaciones físicas que afecten su presentación comercial, este ya no es aceptado por parte del paciente consumidor.

2.8. VARIABLES

- **Variables Independientes:**

- Frutos del *Zea Mays L.* (Maíz Morado), *Rubus glaucus* (mora andina) y *Opuntia soherensii* (ayrampo).
- Gel de limpieza cutánea.
- Sinergismo de la actividad antibacteriana y antifúngica entre los extractos.

- **Variable Dependiente:** Actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos de los frutos del *Zea Mays L.* (Maíz Morado), *Rubus glaucus* (mora andina) y *Opuntia soherensii* (ayrampo).

2.9. HIPÓTESIS

Los compuestos químicos de los extractos acuosos y etanólicos de los frutos del *Zea Mays L.* (Maíz Morado), *Rubus glaucus* (mora); *Opuntia soehrensii* (ayrampo) tienen actividad antibacteriana y antifúngica, los cuales servirán de base para el diseño de un gel de limpieza cutánea.

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. MATERIALES.

3.1.1. Material botánico:

- Fruto del *Zea Mays L.*
- Fruto del *Rubus glaucus*
- Fruto del *Opuntia soherensii*

3.1.2. Material biológico:

- ***Staphylococcus aureus*** ATCC 25933
- ***Escherichia coli*** ATCC 8739
- ***Pseudomonas aeruginosa*** ATCC 27853
- ***Bacillus subtilis*** ATCC 6633
- ***Candida albicans*** ATCC 10231

3.2. PROCEDIMIENTOS:

3.2.1. Colección e identificación del material botánico

- a. Los frutos y la especie botánica del *Zea Mays L.* (Maíz Morado) fueron recolectados el 15 de diciembre del 2012, en el Distrito de Huaros, Provincia de Canta, Departamento de Lima, a una altitud de 3 591 msnm.
- b. Los frutos y la especie botánica del *Rubus glaucus* (mora) fueron recolectados el 22 de diciembre del 2012, en el distrito de Santa Eulalia, Provincia de Huarochirí, Departamento de Lima, a una altitud de 2 800 msnm.
- c. Los frutos y la especie botánica del *Opuntia soehrensii* (ayrampo) fueron recolectados el 10 de noviembre del 2012, Distrito de San Javier de Alpabamba, Provincia de Paucar del Sara Sara, Departamento de Ayacucho, a una altitud de 2 518 msnm.

- d. La cantidad de fruto colectado de cada especie botánica fue de 2 Kg.
- e. La clasificación taxonómica de las especies vegetales mencionadas, se realizó en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para su clasificación taxonómica. (Ver Anexos).

3.2.2. Obtención de la muestra

Se seleccionaron y lavaron los frutos de cada especie vegetal con características homogéneas y libres de daño físico.

A cada fruto se le realizó un acondicionamiento previo para luego ser llevado al proceso de desecación.

a. Con el fruto del maíz morado se procedió a separar los granos de la coronta. La coronta se desecó en una estufa a 40°C por 72 horas, se llevó a molienda; se realizó el proceso de extracción (acuoso y maceración en alcohol etílico). Para luego obtener el extracto seco utilizando el rotavapor.

b. Con el fruto de la mora se procedió acondicionarlo de manera adecuada y se llevó a desecar en una estufa a 37°C por 48 horas; se realizó el proceso de extracción (acuoso y maceración en alcohol etílico) y obtener el extracto seco utilizando el rotavapor.

c. Con el fruto del ayrampo se procedió a separar la cáscara de la pulpa en un recipiente adecuado; luego se tamizó la pulpa para separarla de las pepas. La pulpa libre de pepas se desecó en una estufa a 37°C por 48 horas; se realizó el proceso de extracción (acuoso y maceración en alcohol etílico) y obtener el extracto seco utilizando el rotavapor.

Con la finalidad de identificar los metabolitos activos de cada especie y demostrar las diferencias de su actividad antibacteriana debido al medio de extracción, se realizó dos tipos de extracción.

- **Extracción Acuosa**⁽³⁴⁾.

Se añade a un matraz 10 g del fruto seco y reducido de tamaño (polvo), se le agrega 90 mL de agua destilada, se procedió a calentar por una hora a 70°C agitando, luego se filtró y concentró hasta un volumen de 50 mL.

- **Extracción Alcohólica**⁽²⁶⁾.

El tipo de extracción fue el método de maceración alcohólica. En un envase de vidrio ámbar se colocó en su interior 500 g de cada muestra seca (previamente reducida de tamaño). Luego se añadió alcohol etílico de 96° hasta que cubrió por completo el contenido de las muestras. Se le agitó tres veces por día; el tiempo de maceración fue por 7 días. Después de los 7 días de maceración se filtró a través de una membrana estéril. Posteriormente se procede a la evaporación del contenido alcohólico de lo filtrado.

3.2.3. Estudio Fitoquímico

3.2.3.1 Ensayo de Solubilidad.

En 4 tubos de ensayo se colocó una pequeña porción de cada uno de los extractos secos de cada especie, y se les agregó a cada tubo de ensayo 2 mL del solvente respectivo, H₂O, MeOH, Alcohol etílico 96°, Alcohol etílico 50°.

3.2.3. Ensayo Fitoquímico⁽³⁵⁾.

Se pesó 50 g de cada fruto seco (polvo) con el que se obtuvo el extracto etanólico, éste último fue utilizado en el screening fitoquímico preliminar⁽²⁴⁾.

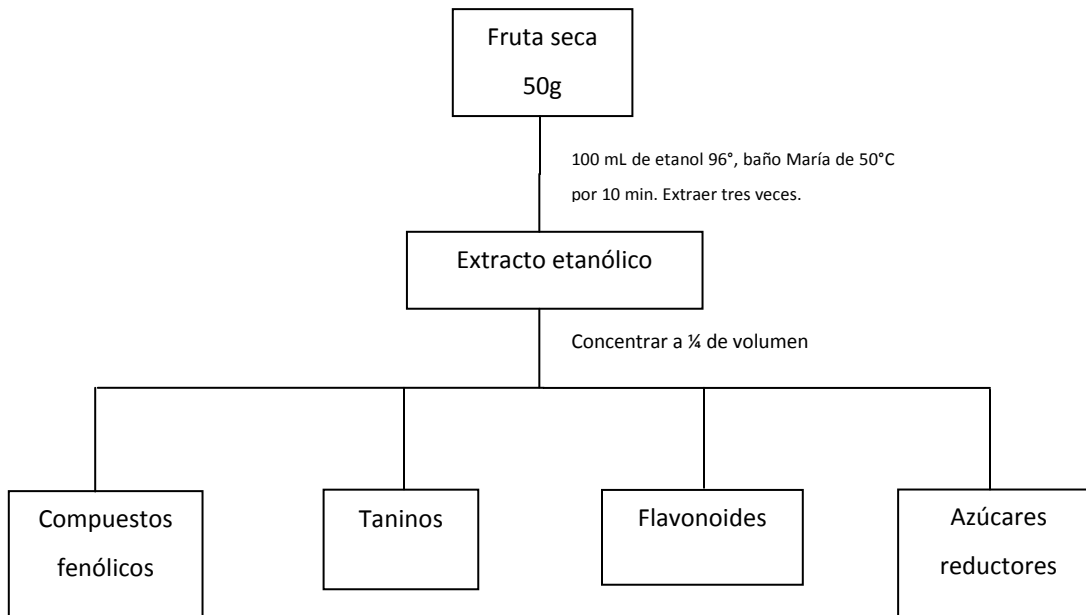


Figura N°2. Marcha Fitoquímica Preliminar

3.2.4. Identificación cromatográfica⁽³⁵⁾.

La cromatografía en capa delgada permitió identificar la presencia de compuestos fenólicos utilizando el sistema de solventes que permitiera una mejor separación, además se utilizó agentes reveladores.

A partir del extracto etanólico de cada fruta se incorpora éstos a un soporte de cromatoplasacas de Silica gel F60 de 5 cm x 6 cm, de 2 mm de espesor. Se utilizaron como fases móviles, mezclas de solventes de acuerdo a su polaridad, detalladas mas adelante en la Tabla N°7.

Los agentes reveladores químicos fueron, vapores de Iodo y luz UV 254 nm.

3.2.5. Determinación de la actividad Antibacteriana y Antifúngica

Al realizar dos tipos de extracción para cada especie (extracción acuoso y alcohólico), se procedió a evaluar la actividad antibacteriana y antifúngica de los mismos.

a. Método de difusión en agar⁽²⁸⁾.

Fundamento:

Esta prueba se basa en la inhibición del crecimiento bacteriano, mediante la difusión de las sustancias activas en un medio sólido, la que se evidencia con la formación de halos de inhibición.

b. Microorganismos:

- ***Staphylococcus aureus*** ATCC 25933
- ***Escherichia coli*** ATCC 8739
- ***Bacillus subtilis*** ATCC 6633
- ***Pseudomonas aeruginosa*** ATCC 27853
- ***Candida albicans*** ATCC 10231

c. Preparación de la suspensión del inóculo⁽²⁸⁾.

Las colonias aisladas fueron seleccionadas de un cultivo en placa de agar TSA para las bacterias y agar dextrosa Sabouraud para la levadura, después de 18 a 24 horas a 35°C de temperatura. El inóculo se preparó mediante una suspensión directa en solución salina al 0.9% de las colonias aisladas y se ajustó la turbidez del inóculo utilizado al tubo N° 0.5 (1.5×10^8 UFC/mL) de la escala Mac Farland.

d. Preparación de las placas⁽²⁸⁾.

El medio de cultivo empleado fue Agar Mueller Hinton para las bacterias y agar dextrosa Sabouraud para la levadura, previamente esterilizado en autoclave a 121°C x 15 min. Enfriado y mantenido a 45°C, posteriormente se agrego 1 mL de suspensión del inóculo por cada 100 mL de medio de cultivo, mezclados asépticamente, se agitó suavemente y se repartió 20 mL uniformemente en cada placa Petri, luego se dejó solidificar y se rotuló

cada placa. Posteriormente se hizo pozos excavados en el mismo medio de cultivo, con la ayuda de un sacabocado de acero de 10 mm de diámetro interno, distribuidos equitativamente en el interior de cada placa.

e. Preparación de las diluciones de los extractos.

Se prepararon diluciones a partir de los extractos secos (obtenidos por extracción acuosa y alcoholica), se diluyeron con agua destilada y etanol 96° respectivamente, hasta obtener una concentración de 25 mg/mL, 50 mg/mL, 100 mg/mL, 200 mg/mL⁽²³⁾.

- Control negativo:

Se realizó con Etanol al 96° para los extractos alcohólicos y Agua destilada en el caso de los extractos acuosos.

- Controles Positivos:

Discos de antibióticos: Trimetoprim-sulfametoxazol 25 µg/disco (Merck), Ciprofloxacino 5 µg/disco (Merck) y Fluconazol 25 µg/disco (Merck).

f. Inoculación e Incubación:

Se colocó 0.1 mL de las diluciones de los extractos etanólicos y acuosos de las diferentes muestras a evaluar en los pozos hechos previamente en cada placa. Se dejó reposar por 1 hora a temperatura ambiente y luego se llevó a una temperatura de incubación de 35°C por 24 horas⁽²³⁾.

g. Lectura e Interpretación:

Después de transcurrido el tiempo de incubación, se realizó la observación y lecturas de las zonas claras de inhibición del crecimiento bacteriano, y se procedió a realizar la medición de los diámetros (en mm) de estas zonas. Las Tablas N°8 y N°9 indican el promedio de los diámetros de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano ya que la prueba se realizó por triplicado, con la finalidad de obtener datos significativos.

3.2.6. Formulación y diseño del gel de limpieza cutánea con el extracto de mejor actividad antibacteriana.

3.2.6.1 Selección del tipo de gel o agente gelificante⁽³³⁾.

Gel de Carbopol Hidroalcoholico, dentro de sus características es interesante para aquellos principios activos solubles en alcohol, se puede formular con cualquier graduación alcohólica, incluso con alcohol de 96°.

El carbopol 940® es un buen espesante a viscosidades altas. Es un polímero de alto peso molecular, una mezcla de ácido acrílico unido con éteres de sacarosa. Los geles obtenidos son transparentes y brillantes. Es sin duda alguna el más utilizado en fórmulas magistrales para la vía tópica^(32,36).

3.2.6.2 Selección de excipientes.

Una vez escogida el tipo de gel o agente gelificante, se eligieron los excipientes faltantes teniendo en cuenta las características de éstos, los rangos habituales de uso sugeridas en la literatura consultada, seguridad e incompatibilidades; además, que brinden a la formulación la característica de solubilidad del extracto y que proporcione a la formulación las características deseadas ^(32,37).

Tabla N°2. Excipientes utilizados en la formulación

Excipientes
Glicerina
Carbopol 940®
Alcohol
Agua Destilada

3.2.6.3 Establecimiento de la fórmula

Según el resultado de los estudios preliminares se procedió a establecer la fórmula del gel de limpieza cutánea. El tipo de formulación establecida se observa en la Tabla N°11.

3.2.6.4 Establecimiento del proceso de manufactura o preparación del gel.

El proceso de manufactura se estableció en base a los estudios de formulación. El proceso de manufactura describe los parámetros de procesos a controlar durante la elaboración de la forma farmacéutica. Tabla N°12.

3.2.6.5 Establecimiento de especificaciones del producto terminado.

Se establecieron las especificaciones para el producto terminado teniendo en cuenta los estudios de formulación y la información monográfica de Farmacopeas.

- **Determinación Organoléptica del Gel:** Análisis del aspecto, color, olor, sabor.
- **Determinación de la presencia de grumos en el gel.** Tomar una pequeña cantidad de gel con los dedos y aplicar suavemente en el dorso de la mano y observar si hay la presencia o ausencia de grumos.
- **Determinación de untuosidad al tacto del gel.** Tomamos una pequeña cantidad de gel con los dedos y aplicamos suavemente en el dorso de la mano y observar si hay presencia de arenosidad.
- **Determinación del pH.**
- **Determinación de la Extensibilidad del gel.** La prueba de extensibilidad es una de las pruebas obligatorias para todo semisólido que se aplica en la piel, consiste en tomar un gramo del producto y

colocarlo en un superficie lisa (placa de vidrio transparente que se encuentra encima de un papel milimetrado), y con la ayuda de una espátula flexible extenderla hasta tratar de cubrir, de manera uniforme, la mayor cantidad de superficie (Figura N°32). La superficie se mide y se expresa en cm^2/g ^(38,39,40).

3.2.6.6 Incorporación del extracto seco

A las formulaciones preparadas se le incorporaron concentraciones de 0.1, 0.5 y 1 % en peso de extracto seco (obtenido por extracción acuosa y alcohólica); se les realizó un ensayo preliminar de capacidad antibacteriana a las diferentes diluciones.

3.2.7. Determinación de la actividad antibacteriana del gel de limpieza cutánea con los extractos del *Rubus glaucus* (mora andina) y *Opuntia soehrensii* (ayrampo) al 0.1%, 0.5% y 1% (P/Vol)

3.2.7.1 Preparación de las muestras:

Los extractos secos (obtenidos de la extracción acuosa y alcohólica), se diluyeron con el gel preparado de carbopol hasta obtener una concentración de 0.1%, 0.5% y 1%

3.2.7.2 Inoculación e Incubación:

Se colocó 0.1 mL de las diluciones de extractos incorporados en el gel de carbopol (0.1%, 0.5% y 1%), de las diferentes muestras a evaluar en los pozos hechos previamente en cada placa. Se dejó reposar por 1 hora a temperatura ambiente y luego se llevó a una temperatura de incubación de 35°C por 24 horas. Las Tablas N°14 y N°15 indican el promedio de los diámetros de los halos de inhibición bacteriana para una prueba que se realizó por triplicado.

- Control negativo:

Se realizó con el gel de carbopol sin extracto (acuoso o alcohólico)

- Controles Positivos:

Pequeños cilindros o discos de antibióticos: Trimetoprim-sulfametoxazol 25 µg/disco (Merck), Ciprofloxacino 5 µg/disco (Merck), Fluconazol 25 µg/disco (Merck).

3.2.8. Determinación del Sinergismo de la Actividad Antibacteriana de los geles con los extractos del *Rubus glaucus* (mora andina) y *Opuntia soehrensii* (ayrampo).

En búsqueda de un posible efecto de sinergismo entre los extractos del *Rubus glaucus* (mora andina) y *Opuntia soehrensii* (ayrampo) se realizó la incorporación de éstos en el gel base; para esto se tuvo la premisa que éstos fueron los extractos que presentaron mayor actividad.

3.2.9. Ensayos de Estabilidad

Las formulación fue sometida a la prueba de centrifugación. Se centrifugó a 3 000 rpm durante 30 minutos para determinar alguna inestabilidad del producto.

3.2.9.1 Estabilidad preliminar

Esta prueba tiene como objetivo auxiliar y confirmar en la elección de la formulación correcta. El estudio de estabilidad preliminar consiste en la realización de la prueba en la fase inicial del desarrollo del producto, utilizándose diferentes formulaciones de laboratorio y con duración reducida. Emplea condiciones extremas de temperatura con el objetivo de acelerar posibles reacciones entre sus componentes. Debido a las

condiciones en que es conducido, este estudio no tiene la finalidad de estimar la vida útil del producto, sino de auxiliar en la selección de la formulación⁽⁴¹⁾.

La formulación fue sometida a las siguientes condiciones:

- Temperatura elevada

Estufa: $T = 40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 15 días.

- Temperatura baja

Nevera: $T = 5 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 15 días.

- Ciclos de temperaturas de estrés

Ciclos de 24 horas a $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$, y 24 horas a $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante dos semanas.

IV. RESULTADOS

4.1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA SECA EN POLVO DE LOS FRUTOS EMPLEADOS.

- **Características Organolépticas.**

Tabla N°3. Características Organolépticas de los Extractos Secos

Características Organolépticas	Extractos Secos		
	<i>Zea Mays L.</i> (Maíz Morado)	<i>Rubus glaucus</i> (Mora)	<i>Opuntia soherensii</i> (Ayrampo)
Aspecto	Sólido	Sólido	Sólido muy higroscópico
Color	Purpura Oscuro	Rojizo oscuro	Rojizo oscuro
Olor	Característico	Característico	Característico
Sabor	Característico	Característico	Característico

- **Características fisicoquímicas.**

Tabla N°4. Característica Fisicoquímica de los Extractos Secos

Característica Fisicoquímica	Extractos Secos		
	<i>Zea Mays L.</i> (Maíz Morado)	<i>Rubus glaucus</i> (Mora)	<i>Opuntia soherensii</i> (Ayrampo)
pH	5.2	5.0	5.0

Tabla N°5. Solubilidad de los extractos secos.

Solubilidad del extracto seco	Solvente				Descripción
	Agua	Alcohol 96%	Alcohol 50%	Metanol	
<i>Zea Mays L.</i> (Maíz Morado)	(-)	(-)	(-)	(-)	El extracto seco forma un precipitado en todos los solventes, y se suspende.
<i>Rubus glaucus</i> (Mora)	(-)	(-)	(-)	(-)	El extracto seco forma un precipitado en todos los solventes.
<i>Opuntia soherensii</i> (Ayrampo)	(-)	(-)	(-)	(-)	El extracto seco forma un precipitado en todos los solventes.

Leyenda: (-) no presenta solubilidad en el solvente.

4.2. MARCHA FITOQUÍMICA

Tabla N°6. Screening fitoquímico del extracto etanólico de las muestras biológicas.

REACCIONES	<i>Zea Mays L.</i> (maíz morado)	<i>Rubus glaucus</i> (mora)	<i>Opuntia soehrensii</i> (ayrampo)
Compuestos Fenólicos			
Reactivo de cloruro férrico	++	+	+
Taninos			
Solución de gelatina 10%	+	+	+
Flavonoides			
Reactivo de Shinoda	+	+	+
Alcaloides			
Reactivo de Dragendorff	+	+	++
Reactivo de Mayer	+	+	++
Reactivo de Popoff	-	-	-
Reactivo de Bertrand	-	-	-
Aminoácidos libres			
Reactivo de ninhidrina	-	-	-
Triterpenoides y esteroides			
Reactivo de Liebermann-Burchard	-	-	-
Saponinas	-	-	-
Azucares reductores			
Reactivo de Fehling	++	++	++

Leyenda: (+) ligera reacción positiva, (++) mediana reacción positiva, (-) reacción negativa

4.3. ENSAYO CROMATOGRÁFICO EN CAPA DELGADA

Tabla N°7. Sistema de solventes evaluados del extracto etanólico de las muestras biológicas.

Sistema de solventes	Resultados de acuerdo a la separación		
	<i>Zea Mays L.</i> (Maíz Morado)	<i>Rubus glaucus</i> (mora)	<i>Opuntia soehrensii</i> (ayrampo)
n-hexano:acetato de etilo (4:2)	x	x	x
Metanol:acetato de etilo (5:2)	x	x	x
Metanol:cloroformo:acetato de etilo (3:2:2)	x	x	x
Metanol:acetato de etilo:cloroformo (5:2:3)	x	x	x
Metanol:acetato de etilo:cloroformo (4:2:2)	✓	✓	x
Metanol:acetato de etilo:cloroformo: ácido acético (5:2:3:0,5)	x	x	✓
Metanol:acetato de etilo:cloroformo: ácido acético (4:2:2:0,5)	x	x	x

Leyenda: (x) no desarrollan buena separación de sustancias, (✓) buena separación de sustancias.

4.4. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIFÚNGICA DE LOS EXTRACTOS SECOS.

4.4.1 Con las diluciones del extracto seco obtenido por extracción acuosa.

Tabla N°8. Promedio de los diámetros de los Halos de Inhibición de crecimiento bacteriano de los extractos secos obtenidos por extracción acuosa de los frutos del *Zea Mays L.* (Maíz Morado), *Rubus glaucus* (mora); *Opuntia soherensii* (ayrampo) mediante el método de difusión en agar.

Promedio de los diámetros de los halos de Inhibición de Crecimiento Bacteriano (mm)					
<i>Muestra</i>	<i>Microorganismos</i>				
Extractos de los frutos	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Zea Mays L.</i> (Maíz Morado) 25mg/ml	NP	12.3	NP	NP	NP
<i>Zea Mays L.</i> (Maíz Morado) 50 mg/ml	NP	13.6	NP	NP	NP
<i>Zea Mays L.</i> (Maíz Morado) 100 mg/ml	NP	14.3	NP	NP	NP
<i>Zea Mays L.</i> (Maíz Morado) 200 mg/ml	NP	15	NP	NP	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 25 mg/ml	NP	NP	12.3	12	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 50 mg/ml	NP	NP	13.3	13.3	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 100 mg/ml	NP	14	15.6	17.3	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 200 mg/ml	NP	16.6	16.6	19	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 25 mg/ml	NP	NP	NP	NP	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 50 mg/ml	NP	13	NP	NP	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 100 mg/ml	NP	13.3	NP	NP	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 200 mg/ml	NP	16	NP	NP	NP
Controles	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Echerichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
Agua destilada	0	0	0	0	0
TMP – SMX 25µ/disco	38	36.3	37	40.3	NP
Ciprofloxacino 5 µ/disco	40.3	33.3	40	35.6	NP
Fluconazol 25 µg/disco.	NP	NP	NP	NP	26.3

Leyenda: NP: No presento halo. Actividad antibacteriana significativa (>18 mm)

Al realizarse las pruebas por triplicado la base de los datos obtenidos se muestran en Anexos.

4.4.2 Con las diluciones del extracto seco obtenido por extracción alcohólica.

Tabla N°9. Promedio de los diámetros de los Halos de Inhibición de crecimiento bacteriano de los extractos secos obtenidos por extracción alcohólica de los frutos del *Zea Mays L.* (Maíz Morado), *Rubus glaucus* (mora); *Opuntia soherensii* (ayrampo) mediante el método de difusión en agar.

Promedio de los diámetros de los halos de Inhibición de Crecimiento Bacteriano (mm)					
Muestra	Microorganismos				
Extractos de los frutos	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Zea Mays L.</i> (Maíz Morado) 25mg/ml	NP	13	NP	13	12.3
<i>Zea Mays L.</i> (Maíz Morado) 50 mg/ml	NP	15.6	NP	14.3	12.6
<i>Zea Mays L.</i> (Maíz Morado) 100 mg/ml	NP	19.6	NP	14.6	13
<i>Zea Mays L.</i> (Maíz Morado) 200 mg/ml	NP	21	NP	16	14
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 25 mg/ml	NP	12.3	12.6	12.6	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 50 mg/ml	NP	14.6	16	16	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 100 mg/ml	NP	18	19.3	18	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 200 mg/ml	NP	20.3	27.3	20.3	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 25 mg/ml	NP	NP	13.6	NP	13
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 50 mg/ml	NP	14.6	16.3	16.6	13
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 100 mg/ml	NP	16.3	20.3	21.3	14.3
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 200 mg/ml	NP	19	26.3	26.6	14.6
Controles	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
Etanol 96°	0	0	0	0	0
TMP – SMX 25µ/disco	40.6	27.3	28.3	40.6	NP
Ciprofloxacino 5 µ/disco	30.6	25	28.6	38	NP
Fluconazol 25 µg/disco.	NP	NP	NP	NP	26.6

Leyenda: NP: No presento halo. Actividad antibacteriana significativa (>18 mm)

Al realizarse las pruebas por triplicado la base de los datos obtenidos se muestran en Anexos.

4.5. PRUEBAS DE FORMULACIÓN

Los resultados de la pruebas se fundamentaron en la variación de la concentración de carbopol 940® utilizado en la formulación (1 %, 1.5%, 2% respectivamente) y el manejo de la cantidad de alcohol.

Tabla N°10. Pruebas de formulación del gel

Formulación	Composición de la Formulación		Descripción
I	Glicerina	0,50 %	Gel con falta de consistencia
	Carbopol 940®	1,00 %	
	Alcohol	15,50 %	
	Agua destilada	83,00 %	
II	Glicerina	0,50 %	Gel con apariencia y consistencia adecuada
	Carbopol 940®	1,50 %	
	Alcohol	15,00 %	
	Agua destilada	83,00 %	
III	Glicerina	0,50 %	Gel de consistencia espesa
	Carbopol 940®	2,00 %	
	Alcohol	14,50 %	
	Agua destilada	83,00 %	

4.6. ESTABLECIMIENTO DE LA FORMULACIÓN

Según el resultado de las pruebas de formulación, las características del producto terminado (consistencia y apariencia) fueron evaluadas, seleccionándose la formulación II como la de mejor en estas características.

Tabla N°11. Formulación del gel

Formulación II	Porcentaje (%)
Glicerina	0,50
Carbopol 940®	1,50
Alcohol	15,00
Agua destilada	83,00

4.7. PREPARACIÓN DEL GEL

4.7.1. Flujograma del proceso.

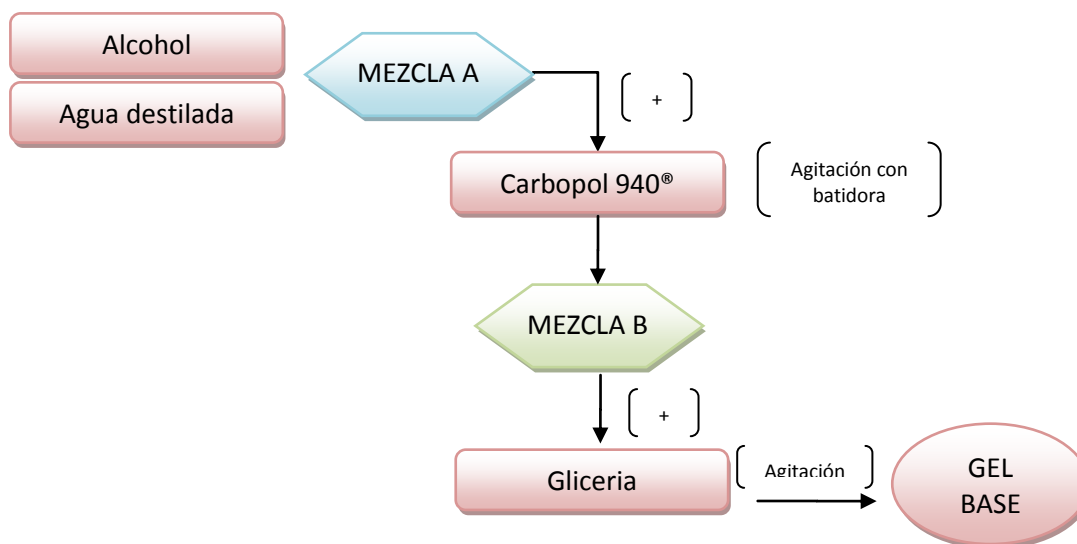


Figura N°3. Proceso de preparación del gel

4.7.2. Procedimiento de la preparación del gel.

Tabla N°12. Procedimiento para la elaboración de 250 ml de gel

1. Verificación de datos	
1.1.	Verificar el nombre y peso de la materia prima, de acuerdo a las proporciones de la fórmula maestra.
1.2.	No debe de haber variación en el peso ni en la identidad de las materias primas.
1.3.	No debe de haber materias primas extrañas a las descritas en la orden de fabricación.
2. Mezcla A	
2.1.	Para la mezcla 1, agregar en un recipiente agua destilada 207.5 ml y alcohol 37.5 ml mezclar de manera uniforme. Mantener la mezcla a un rango de temperatura ambiente.
3. Mezcla B	
3.1.	Agregar de poco a poco 3.75 g. de carbopol 940® a la mezcla A con la ayuda de una batidora para ayudar a disolver el carbopol en el diluyente formado. La mezcla B formada no debe presentar grumos ni restos de carbopol sin disolverse.
4. Mezcal final (formación del gel)	
4.1.	Añadir a la mezcla la cantidad de 1.25 ml de glicerina para ayudar a disolver el carbopol
5. Gel base	
5.1.	Gel presentara buena consistencia y apariencia

4.7.3. Especificaciones del producto terminado^(38,39,40).

Tabla N°13. Especificaciones de gel

Parámetros	Resultados
Aspecto	Gel homogéneo untuoso al tacto, libre de grumos.
Color	Transparente
Olor	Característicos de sus ingredientes
Presencia de grumos	Negativo
Untuosidad al tacto	Penetrante (Buena)
pH	6.8
Extensibilidad	21.3 cm ² /g.

4.8. Determinación de la actividad antibacteriana del gel de limpieza cutánea con la adición de los extractos secos.

Con el resultado obtenido de la Tabla N°10 y Tabla N°11 se considero que los extractos de mayor actividad antibacteriana deberían ser añadidos al gel base. Para esto se consideró los extractos secos (obtenidos de la extracción acuosa y alcohólica) del *Rubus glaucus* (mora andina) y *Opuntia soherensii* (ayrampo) que presentaron actividad mayor para las cepas utilizadas. La concentración de los extractos en el gel base serían al 0.1%, 0.5% y 1% para cada extracto.

Elaborados los geles con la adición de la concentración de extracto correspondiente se llevaría a cabo la prueba de difusión agar.

4.8.1 Gel con la adición del extracto seco obtenido por extracción acuosa.

Tabla N°14 . Promedio de los diámetros de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano del gel base con los extractos secos (obtenidos por extracción acuosa) del *Rubus glaucus* (mora andina) y *Opuntia soherensii* (ayrampo) a una concentración del 0.1%, 0.5% y al 1%.

Promedio de los diámetros de los halos de Inhibición de Crecimiento Bacteriano (mm)				
<i>Muestra</i>	<i>Microorganismos</i>			
Extractos secos de los frutos en gel base	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 0.1%	NP	NP	NP	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 0.5%	NP	NP	NP	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 1%	NP	13	NP	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 0.1%	NP	NP	NP	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 0.5%	NP	NP	NP	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 1%	NP	13	12.3	NP
Controles	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Echerichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
Gel base	0	0	0	0
TMP – SMX 25µ/disco	37.6	38	41	NP
Ciprofloxacino 5 µ/disco	35.3	44.3	36.6	NP
Fluconazol 25 µg/disco.	NP	NP	NP	26.6

Leyenda: NP: No presento halo. Actividad antibacteriana significativa (>18 mm)

4.8.2 Gel con la adición del extracto seco obtenido por extracción alcohólica.

Tabla N°15 . Promedio de los diámetros de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano del gel base con los extractos secos (obtenidos por extracción alcohólica) del *Rubus glaucus* (mora andina) y *Opuntia soherensii* (ayrampo) a una concentración del 0.1%, 0.5% y al 1%.

Promedio de los diámetros de los halos de Inhibición de Crecimiento Bacteriano (mm)				
<i>Muestra</i>	<i>Microorganismos</i>			
Extractos secos de los frutos en gel base	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 0.1%	13.3	14	13	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 0.5%	14	15.6	13.6	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 1%	16.3	16.6	15.3	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 0.1%	13	13	13	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 0.5%	14.3	16	15.3	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 1%	16	18	17	NP
Controles	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Echerichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
Gel base	0	0	0	0
TMP – SMX 25µ/disco	37.6	33.6	41.6	NP
Ciprofloxacino 5 µ/disco	31.3	33	37.6	NP
Fluconazol 25 µg/disco.	NP	NP	NP	28

Leyenda: NP: No presento halo. Actividad antibacteriana significativa (>18 mm)

4.9. Determinación del Sinergismo de la actividad antibacteriana del gel de limpieza cutánea con la adición de los extractos secos.

4.9.1 Gel con la adición de los extractos secos del *Rubus glaucus* (mora andina) y *Opuntia soherensii* (ayrampo) obtenido por extracción acuosa.

Tabla N°16 . Promedio de los diámetros de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano del gel base con la mezcla de los extractos secos (obtenidos por extracción acuosa) del *Rubus glaucus* (mora andina) y *Opuntia soherensii* (ayrampo) a una concentración del 0.1%, 0.5% y al 1%.

Promedio de los diámetros de los halos de Inhibición de Crecimiento Bacteriano (mm)				
Muestra	Microorganismos			
Extractos secos de los frutos en gel base	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 0.1% + <i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 0.1%	NP	NP	NP	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 0.5% + <i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 0.5%	NP	NP	NP	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 1% + <i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 1%	NP	13	13.6	NP
Controles	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Echerichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
Gel base	0	0	0	0

Leyenda: NP: No presento halo. Actividad antibacteriana significativa (>18 mm)

4.9.2 Gel con la adición de los extractos secos del *Rubus glaucus* (mora andina) y *Opuntia soherensii* (ayrampo) obtenido por extracción alcohólica.

Tabla N°17 . Promedio de los diámetros de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano del gel base con la mezcla de los extractos secos (obtenidos por extracción alcohólica) del *Rubus glaucus* (mora andina) y *Opuntia soherensii* (ayrampo) a una concentración del 0.1%, 0.5% y al 1%.

Promedio de los diámetros de los halos de Inhibición de Crecimiento Bacteriano (mm)				
Muestra	Microorganismos			
Extractos secos de los frutos en gel base	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 0.1% + <i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 0.1%	13.6	14.3	13.3	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 0.5% + <i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 0.5%	14.6	16	15.6	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 1% + <i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 1%	17	18.3	17.3	14.3
Controles	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Echerichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
Gel base	0	0	0	0

Leyenda: NP: No presento halo. Actividad antibacteriana significativa (>18 mm)

4.10. Ensayo de Estabilidad

4.10.1 Prueba de Centrifugación.

Tabla N°18. Resultados de la prueba de centrifugación

Formulación	Descripción
Gel base	Gel sin ninguna presencia de alteración en su condición como tal o en su estructura. Ausencia de separación o formación de dos fases. No existe formación de agua.

4.10.2 Prueba de Estabilidad preliminar.

Esta prueba fue realizada a la formulación (gel base) durante 15 días. Las condiciones del ensayo (T° elevada 40°C, T° de estrés 4°C y 40°C, y T° de refrigeración 4°C) permitieron establecer la robustez de la formulación.

Tabla N°19. Resultados de la estabilidad preliminar

Formulación	Temperatura	Descripción
Gel base	4°C	No hubo incompatibilidad durante los 15 días.
	4°C y 40°C	La separación de fases se presentó al décimo día (presencia de agua en la base del recipiente). La formulación se tornó de color menos transparente (opaco a oscuro)
	40°C	La formulación presentó separación de fases al séptimo día y la formulación se tornó opaco a oscuro.

Los resultados expuestos anteriormente permitieron establecer que el gel base no es estable a temperaturas de estrés ni a altas temperaturas transcurrido una semana, ya que se presentaban incompatibilidades. Sin embargo, las temperaturas elevadas y de estrés del ensayo son referenciales ya que la formulación (gel base) no será expuesta a estas condiciones durante su almacenamiento.

V. DISCUSIÓN

El solvente empleado en la extracción de compuestos flavonoides es determinante, teniendo desde los muy polares como agua y etanol hasta los menos polares como éter y cloroformo^(25,35).

El agua es casi universalmente el disolvente inicial utilizado para la extracción de compuestos activos; proyecciones iniciales de las plantas para posibles actividades antimicrobianas comienzan típicamente usando una extracción acuosa o extracciones de alcohol y pueden ser seguidos por diversos métodos de extracción. Puesto que casi todos los componentes identificados a partir de plantas activas contra microorganismos son compuestos orgánicos aromáticos o saturados, éstos son más a menudo obtenidos a través de etanol inicial o extracción con metanol. De vez en cuando los taninos y flavonoides se pueden extraer con un disolvente acuoso, pero con más frecuencia se obtienen por tratamiento con disolventes menos polares⁽²⁹⁾. En el presente trabajo los solventes empleados para la extracción de metabolitos activos que evidenciaron actividad antibacteriana y antifúngica fueron el agua y el etanol; en un trabajo anterior realizado en nuestra facultad para la determinación de la actividad antibacteriana por presencia de flavonoides en las hojas del *Laurus nobilis* "laurel" el solvente utilizado para la extracción fue el etanol⁽²⁶⁾.

El screening fitoquímico preliminar realizado a los extractos de los frutos del *Zea Mays* L. (Maíz Morado), *Rubus glaucus* (mora), y *Opuntia soherensii* (ayrampo) dieron como positivo a compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, y azúcares reductores. En el caso de los compuestos fenólicos la reacción de identificación fue más evidente en el extracto del fruto del *Zea Mays* L.. En el extracto del fruto de la *Opuntia soherensii* la reacción más notoria como positivo fue para alcaloides (Tabla N°6). El género *Opuntia* debe su color a las betalaínas (un alcaloide), los frutos que contienen betalaínas también poseen fenoles de diferentes tipos, excepto antocianinas, pues estas dos clases de pigmentos son mutuamente

excluyentes^(8,22). Se debe indicar que resultados también guardan relación a la influencia de los diferentes factores ambientales, climáticos, influencia de las características de las tierras de cultivo, entre otras a lo que pudieron estar expuestas dichas especies vegetales, los cuales le proporcionan una mayor riqueza en componentes químicos⁽²²⁾.

Los resultados de la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos secos obtenidos por extracción acuosa y etanólica de los frutos de del *Zea Mays L.* (Maíz Morado), *Rubus glaucus* (mora), y *Opuntia soherensii* (ayrampo) respectivamente, van a depender de los componentes activos presentes en ellos y de la solubilidad de estos en el solvente de extracción, como se observa en las Tablas N°8 y N°9.

Con respecto a la actividad antimicrobiana de los extractos acuosos y etanolicos de los frutos estudiados, los resultados demostraron que solo el extracto acuoso del *Rubus glaucus* (mora) presento actividad antibacteriana significativa (>18mm)⁽²⁶⁾ con un valor de 19 mm. frente a las cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (ver Tabla N°8).

Los resultados que se obtuvieron en una extracción alcohólica demostraron que los extractos del *Opuntia soherensii* (ayrampo), *Rubus glaucus* (mora) presentaron actividad antibacteriana significativa (>18mm) frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25933, *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomona aureginosa* ATCC 27853. En el caso del extracto del fruto del *Zea Mays L.* (maíz morado) este presento menor actividad antibacteriana y antifungica, con una actividad significativa solo para la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25933 con un valor de 21 mm. (ver Tabla N°9).

Seleccionado los extractos con actividad antimicrobiana éstos fueron incorporados al gel base, prosiguiendo con la evaluación de su actividad frente a las cepas utilizadas.

El extracto seco obtenido por extracción acuosa del *Rubus glaucus* (mora andina) como el de la *Opuntia soherensii* (ayrampo) fueron incorporados al gel base, cada

uno de ellos no presentó actividad antibacteriana y antifúngica significativa frente a ninguna de las cepas estudiadas (ver Tabla N°14).

Con el extracto seco obtenido por extracción alcohólica del *Rubus glaucus* (mora andina) como el de la *Opuntia soherensii* (ayrampo) se obtuvieron los mismos resultados que en la extracción acuosa, pero se destaca que el gel base con el extracto de la *Opuntia soherensii* (ayrampo) al 1% obtiene un valor de 18 mm. frente a las cepa de *Escherichia coli* ATCC 8739 muy cerca a considerarse una actividad significativa (ver Tabla N°15).

Los resultados nos dirigiría a considerar como mejor producto terminado al gel elaborado con el extracto seco obtenido por extracción alcohólica del *Opuntia soherensii* (ayrampo), pero no se debe descartar que podría darse un mejor resultado si existiera un sinergismo con el extracto del *Rubus glaucus* al 1% (mora andina) quien presentó halo de inhibición de crecimiento pero no llego ser un valor significativo.

Se efectuó las pruebas de sinergismos con los extractos de la *Opuntia soherensii* (ayrampo) y del *Rubus glaucus* (mora andina) para obtener un producto terminado con mayor rendimiento y efectividad. El gel base con la adición de los extractos secos de los dos frutos obtenidos por extracción acuosa no presentó actividad antibacteriana y antifúngica significativa frente a ninguna de las cepas estudiadas (ver Tabla N°16), pero el gel base con los extractos secos obtenidos por extracción alcohólica si presento actividad antibacteriana significativa para la cepa *Escherichia coli* ATCC 8739 con un valor de 18.3 mm. (ver Tabla N°17).

El estudio de estabilidad preliminar permitió determinar que la formulación para la elaboración del gel base presentó robustez, la cual se manifestó que a temperaturas altas (40°C) y a temperaturas de estrés (4°C y 40°C) el gel sufre una separación de fases al séptimo día y décimo día respectivamente, lo cual no se manifiesta a temperatura de refrigeración (4°C) ya que permanece sin ninguna alteración física. Sin embargo, estos resultados no son significativos ya que el gel no será almacenada a tales condiciones.

Los ensayos fisicoquímicos realizados al producto terminado y las características organolépticas (aspecto, olor y textura) fueron conformes a las especificaciones determinadas para el producto final. Las características fisicoquímicas medidas fueron: pH, con un valor de 6.8 y extensibilidad de 21,3 cm²/g^(38,39,40).

En la elaboración de un gel antimicótico a partir de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), matico (*Aristiguetia glutinosa*) y marco (*Ambrosia arborescens*) se obtuvo como resultado un gel de pH: 6.34 y estableciendo para la extensibilidad el valor de 22.6 cm²/g⁽⁹⁾.

Se debe tener como premisa que en todo producto dermatológico lo que se busca es acercarse al pH de la piel, el cual oscila entre 4 y 6 en la superficie. Una alta variación en el pH cutáneo podría ocasionar alteraciones como eczemas o infecciones cutáneas⁽⁴²⁾.

Estudios recientes con flavonoides han ido mostrando actividad antimicrobiana frente a diferentes microorganismos, uno de estos caso es el de las hojas de *Laurus nobilis* (laurel) que presenta actividad antibacteriana significativa frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25933⁽²⁶⁾. Existen otros estudios que demuestran la actividad de estos compuestos contra bacterias gram-positivas, hongos y virus⁽²⁹⁾. La presencia de flavonoides en los extractos de los tres frutos estudiados demuestra sus propiedades antibacterianas.

VI. CONCLUSIONES

1. Los compuestos químicos identificados cualitativamente en el screening fitoquímico de los extractos del *Zea Mays L.* (maíz morado), *Rubus glaucus* (mora) y *Opuntia soherensii* (ayrampo) fueron: compuestos fenólicos, taninos, flavonoides y azúcares reductores.
2. Los extractos secos del *Opuntia soherensii* (ayrampo) y del *Rubus glaucus* (mora) obtenido por extracción alcohólica a una concentración de 100 mg/mL y 200 mg/mL. presentaron actividad antibacteriana significativa al generar halos de inhibición en cultivos con *Staphylococcus aureus* ATCC 25933 (un máx. de 20.3 mm. de \varnothing), *Escherichia coli* ATCC 8739 (un máx. de 27.3 mm. de \varnothing) y *Pseudomona aereginosa* ATCC 27853 (un máx. de 26.6 mm. de \varnothing). El extracto seco del *Rubus glaucus* (mora) obtenido por extracción acuosa a una concentración de 200 mg/mL presento actividad antibacteriana significativa frente a la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (19.0 mm. de \varnothing).
3. Se diseñó y formuló un gel de limpieza cutánea a base del agente gelificante carbopol 940®. El extracto seco obtenido por extracción acuosa del *Rubus glaucus* (mora) fue incorporado en el gel al 0.1%, 0.5% y 1% no presentando actividad significativa en ninguna de las cepas empleadas (\leq 18 mm. de \varnothing). Los extractos secos obtenidos por extracción alcohólica del *Rubus glaucus* (mora) y *Opuntia soherensii* (ayrampo) en la concentraciones mencionadas no presentaron actividad antibacteriana significativa (\leq 18 mm. de \varnothing).
4. Se realizó pruebas de sinergismo con los extractos secos obtenidos por extracción alcohólica del *Rubus glaucus* (mora) y *Opuntia soherensii* (ayrampo) incorporados en el gel base a una concentración del 1%, presentando actividad antibacteriana significativa para la cepa *Escherichia coli* ATCC 8739 con un valor de 18.3 mm.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Concepción G. Actividad antibacteriana de extractos vegetales en cepas hospitalarias de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple (tesis doctoral). México, Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro; 2006.
2. Gorriti A, Arroyo J, Negrón L, Jurado B, Purizaca H, Santiago I, Taype E, Quispe F. Antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante de las corontas del maíz morado (*Zea mays L.*): Método de extracción. Bol Latinoam Caribe Plantas Med Aromát. 2009; 8(6): 509-518.
3. Taylor L. Raintree Nutrition. Tropical Plant Database. Database file for: Corn Silk (*Zea Mays*). Ethnic uses. [Información obtenida de internet] 2004 [acceso 25 de febrero 2012]. Disponible en: <http://www.rain-tree.com/cornsilk.htm>.
4. Giraldo B, Salgado MT. Efecto antimicrobiano de extractos de *Rubus glaucus* “*in vitro*”. Editado en Chinchiná (Colombia), Cenicafe, 1995. [acceso 21 de febrero del 2012]. Disponible en: <http://orton.catie.ac.cr/cgi-bin/wxis.exe/?IscScript=CAFE.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=020244>.
5. Ramirez MB, Neira A, Correa LJ. Actividad antimicrobiana, conservante y obtención de un colorante natural a partir de plantas de la región de Boyaca. Scientia et Technica. 2007; 33: 415-417.
6. Garzón GA, Riedl KM, Schwartz SJ. Determination of anthocyanins, total phenolic content, and antioxidant activity in Andes Berry (*Rubus glaucus* Benth). J Food Sci. 2009; 74(3):C227-32.
7. Schreckinger ME, Lotton J, Lila MA, de Mejia EG. Berries from South America: a comprehensive review on chemistry, health potential, and commercialization. J Med Food. 2010;13(2):233-46.
8. Sarmiento VH. Estabilidad Fisicoquímica y Actividad antioxidante de las Betalainas en el Extracto hidrosoluble del Ayrampo (*Opuntia soehrensii*) durante el proceso de Atomizado. [Tesis para Optar el Grado de: Magister Scientiae]. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima - Perú. 2003.
9. Franco M, Barbosa H, Morales A. Elaboración y Control de Calidad del Gel Antimicótico de Manzanilla (*Matricaria chamomilla*), Matico (*Aristiguetia glutinosa*) y Marco (*Ambrosia arborescens*) para neo-fármaco. [Tesis de Grado previa obtención del título de Bioquímico Farmacéutico]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Facultad de Ciencias; Riobamba-Ecuador, 2009.




10. Viorica S. Teñido de fibras sintéticas utilizando colorante extraído del maíz morado (*Zea Mays I.*) [Tesis para optar el título doctorado en Ing. Química]. Universidad Nacional del Callao; Lima, 2011.
11. Erasmo J. Fenología e Intensidad de color en corontas del maíz morado en sus diferentes estados de desarrollo en la localidad de la Molina. [Tesis para optar el grado de Magister Scientae]. Universidad Nacional Agraria de la Molina. Lima. 2010.
12. Araujo J. Estudio de la Extracción del colorante del maíz morado (*Zea Mays L.*) con el uso de enzimas. [Tesis para optar el grado de Magister Scientae]. Universidad Nacional Agraria de la Molina; Lima, 1995.
13. Salazar VH. Alternativas de mejora en el Manejo Poscosecha y Comercialización de la Mora de Castilla (*Rubus glaucus Benth*) proveniente de la Provincia de Tungurahua. [Proyecto previo a la obtención del Título de Ingeniero Agroindustrial]. Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria; Quito, 2012.
14. Villamar, O. Respuesta de las plántulas de mora (*Rubus glaucus Benth*) a la aplicación de Bioestimulantes orgánicos y químicos en vivero en Santa Ana. [Tesis de Grado previo a la Obtención del Título de: Ingeniero Agrónomo]. Universidad Técnica de Manabí; Manabí: Ecuador, 2012.
15. Cárdenas Y. Evaluación Agronómica y Fenología de dos clones de Mora sin espinas (*Rubus glaucus Benth*) para determinar su potencial comercial. [Tesis de Grado previa a la Obtención del título de Ingeniería Agrónoma]. Universidad Central del Ecuador; Quito: Ecuador, 2013.
16. Contreras, CA. Caracterización y Pruebas de patogenicidad cruzada entre aislamientos de *Colletotrichum spp.* Obtenidos de frutos de Lulo (*Solanum quitoense Lam*), Tomate de árbol (*Solanum betacea Sendt*), Granadilla (*Passiflora ligularis Juss*), Mango (*Mangifera indica L*) y Tallos de Mora (*Rubus glaucus Benth*) con síntomas de antracnosis. [Tesis para optar el título profesional de Microbiólogo Agrícola y Veterinario]. Pontificia Universidad Javeriana Facultad de Ciencias Básicas; Bogotá: Colombia, 2006.
17. Franco M, Barbosa H, Morales A. Estudio de la encapsulación de los agentes osmóticos utilizados para la deshidratación osmótica de mora de castilla (*Rubus glaucus*). Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá: Colombia, 2005.
18. Amores D. Evaluación nutritiva y nutraceutica de la mora de castilla (*Rubus glaucus*) deshidratada por el método de liofilización y comparación con la obtenida por deshidratación en microondas y secador en bandejas [Tesis de

- grado Previa a la obtención del título de Bioquímico Farmacéutico]. Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia; Riobamba: Ecuador, 2011.
19. Silva J, Martins de Siqueira A. Acción Antibacteriana de Extractos Hidroalcohólicos de *Rubus Urticaefolius*. Escuela de Farmacia y Odontología. Departamento de Ciencias Biológicas. Rev Cub Plant Medicinal. 2000; 5(1):26-9.
 20. Morales P. Estudio Comparativo de la Estabilidad de la Betanina, capacidad antioxidante y fenólicos totales de los Extractos de Ayrampo (*Opuntia soehrensii* Britton & Rose) y Beterraga (*Beta vulgaris* L.). [Tesis para Optar el Título de: Ingeniero en Industrias Alimentarias]. Universidad Nacional Agraria La Molina; Lima: Perú, 2007.
 21. Aquis E. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico del fruto de *Opuntia soehrensii* Brit y Rose "ayrampo". Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; Ayacucho: Perú: 2011.
 22. Garcia L, Salinas Y, Valle S. Betalaínas, compuestos fenólicos y actividad antioxidante en Pitaya de mayo (*Stenocereus griseus* H.). Rev. Fitotec. Mex. Vol. 35 (Núm. Especial 5): 1 - 5, 2012. Citado el 12/12/2013 en el correo: www.profitocoop.com.ar/articulos/Betalaínas.pdf.
 23. Lorente L. Estudio Farmacognóstico de *Euphorbia Hirta* L. (tesis doctoral). España: Universidad de Granada; 2006
 24. Martinez F, González G, Culebras, Tuñón J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr Hosp. 2002; 17(6):271-278.
 25. Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica. Método en el estudio de productos naturales. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima; 1994:8-10.
 26. Cordova C. Análisis estructural de los flavonoides de los extractos etanólicos de las hojas de *Laurus nobilis* "laurel" peruano y *Laurus nobilis* "laurel" mediterráneo y estudio comparativo de la actividad antibacteriana. [Tesis de pregrado]. Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM; Lima, 2009.
 27. Álvarez M, Debattista N. Antimicrobial Activity and Synergism of Some Substituted Flavonoids. *Folia Microbial*. 2008; 53 (1):23-28.
 28. Rojas R, Bustamante B, Bauer J, Fernández I, Albán J, Lock O. Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. J Ethnopharmacol. 2003; 88 (2-3): 199-204.
 29. Cowan MM. Plant Products as Antimicrobial Agents. Clin Microbiol Rev. 1999 Oct;12(4):564-82.

30. De Souza E, Stamford T, Lima E, Trajano V and Filho J. Antimicrobial effectiveness of spices: an approach for use in food conservation systems. *Braz Arch Biol Technol.* 2005; 48(4): 549-558.
31. Trillo F. Tratado de Farmacia Galénica. 1ra. Edición. Madrid: Editorial Limusa S.A; 1993.
32. Vila J JL. Tecnología farmacéutica. 1era ed. Madrid: Editorial Síntesis; 1997
33. Ortiz J. Formulación magistral de Medicamentos. Colegio de farmacéuticos de Bizkaia. Editor Colegio de Farmacéuticos de Bizkaia, 2004; 443 pag.
34. Ruiz M. Estudio de la Actividad Antimicrobiana y Antiviral de *Hypericum laricifolium* "Chinchango" del Perú. [Tesis para Optar el título profesional de Químico Farmacéutico]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica; Lima: Perú, 2003.
35. Bruneton J. Plantas medicinales, fitoquímica y farmacognosia. 2da Edición. Zaragoza: Editorial Acribia; 2001.
36. Hoyos KM, Yep MY. Diseño de una formulación de aplicación tópica a base de *Baccharis latifolia* (Chilca), con efecto antiinflamatorio [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; Lima: Perú, 2008.
37. Wilkinson-R JB, Moore J. Cosmetología de Harry. 1era ed. Madrid: Editorial Díaz de Santos; 1990.
38. Juárez EJ. Obtención y purificación de la manteca de cerdo. Diseño y formulación de bases dermocosméticas para la incorporación de extractos vegetales. [Tesis doctoral]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; Lima 2008.
39. Pavón PJ, Valdés CL, Pérez RP. Diseño y desarrollo de dos mascarillas faciales para acné con quitina como sustancia bioactiva. *Rev Cubana Farm.* 2011; 45(2): 251-63.
40. CTFA Microbiology Guidelines. Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Association. Washington D.C. 1999.
41. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. Serie calidad en cosméticos. Guía de Estabilidad de Productos Cosméticos. Volumen 1. Brasilia; 2005.
42. Giannetti A, Galimberti R. Tratado de dermatología. 1era ed. Padova: PICCIN; 2011.

VIII. ANEXOS

8.1. CLASIFICACIÓN BOTÁNICA DEL MAÍZ MORADO (*Zea mays* L.)

<p>JOSÉ R. CAMPOS DE LA CRUZ CONSULTOR BOTÁNICO C. B. P. Nº 3796 Celular: 980170139 E-mail: joricampos@yahoo.es</p>	
<h3>CERTIFICACIÓN BOTÁNICA</h3>	
<p>JOSÉ R. CAMPOS DE LA CRUZ. BIÓLOGO COLEGIADO, CBP Nº 3796. CON APROBACIÓN DEL MINISTERIO DE AGRICULTURA, INSCRITO EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIONES E IDENTIFICACIONES DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA Y FAUNA SILVESTRE-RESOLUCIÓN DIRECTORIAL Nº 0218 - 2011-AG-DGFFS-DGERFSEN.</p>	
<p>Certifica: Que, el Bachiller en Farmacia y Bioquímica, Marco Polo Soto Huamani, con fines de investigación científica, ha solicitado la certificación botánica de la planta conocida con el nombre común de "maíz morado", procedente de un cultivo en el Distrito de Canta, Provincia de Canta, Departamento de Lima, a una altitud de 1029 msnm, la muestra ha sido determinada como <i>Zea mays</i> L., variedad ecológica Morado Canteño. En el Sistema de Cronquist, ocupa las siguientes categorías taxonómicas.</p>	
REINO	: Plantae
DIVISIÓN	: Magnoliophyta
CLASE	: Liliopsida
SUBCLASE	: Commelinidae
ORDEN	: Cyperales
FAMILIA	: Poaceae
GENERO	: <i>Zea</i>
ESPECIE	: <i>Zea mays</i> L.
<p>Nombre común: "maíz morado". Se expide la presente certificación para fines de investigación científica. Lima, 18 de enero del 2013</p>	
<div><p>José R. Campos de La Cruz BIÓLOGO C.B.P. 3796</p></div>	
<p>Jr. Sánchez Silva # 156 - Urb. Santa Luzmila - Lima 07.</p>	

8.2. CLASIFICACIÓN BOTÁNICA DEL AYRAMPO (*Opuntia soehrensii*.)

JOSÉ R. CAMPOS DE LA CRUZ
CONSULTOR BOTÁNICO
C. B. P. Nº 3796
Celular: 980170139
E-mail: joricampos@yahoo.es



CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

JOSÉ R. CAMPOS DE LA CRUZ. BIÓLOGO COLEGIADO. CBP Nº 3796. CON APROBACIÓN DEL MINISTERIO DE AGRICULTURA, INSCRITO EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIONES E IDENTIFICACIONES DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA Y FAUNA SILVESTRE-RESOLUCIÓN DIRECTORAL Nº 0218 - 2011-AG-DGFFS-DGEFFSEN.

Certifica:

Que, el Bachiller en Farmacia y Bioquímica, **Marco Polo Soto Huamaní**, con fines de investigación científica, ha solicitado la certificación botánica de la planta conocida con el nombre común de "ayrampo", procedente de un cultivo en el distrito de Distrito de San Javier de Alpabamba, Provincia de Paucar del Sara Sara, Departamento de Ayacucho, la muestra ha sido determinada científicamente como *Tunilla soehrensii* (Britton & Rose) D.R. Hunt & Liff. En el Sistema de Cronquist, ocupa las siguientes categorías taxonómicas.

REINO	: Plantae
DIVISIÓN	: Magnoliophyta
CLASE	: Magnoliopsida
SUBCLASE	: Caryophyllidae
ORDEN	: Caryophyllales
FAMILIA	: Cactaceae
GENERO	: <i>Tunilla</i>
ESPECIE	: <i>Tunilla soehrensii</i> (Britton & Rose) D.R. Hunt & Liff

Sinónimo: *Opuntia soehrensii* Britton & Rose

Nombre común: "ayrampo".

Se expide la presente certificación para fines de investigación científica.

Lima, 18 de enero del 2013



José R. Campos de la Cruz
BIOLOGO
C.B.P. 3796

Jr. Sánchez Silva # 156 - Urb. Santa Luzmila - Lima 07.

8.3. CLASIFICACIÓN BOTÁNICA DE LA MORA ANDINA (*Rubus glaucus B.*)

JOSÉ R. CAMPOS DE LA CRUZ
CONSULTOR BOTÁNICO
C. B. P. Nº 3796
Celular: 980170139
E-mail: joricampos@yahoo.es



CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

JOSÉ R. CAMPOS DE LA CRUZ, BIÓLOGO COLEGIADO, CBP Nº 3796, CON APROBACIÓN DEL MINISTERIO DE AGRICULTURA, INSCRITO EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIONES E IDENTIFICACIONES DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA Y FAUNA SILVESTRE-RESOLUCIÓN DIRECTORAL Nº 0218 – 2011-AG-DGFFS-DGEFFSEN.

Certifica:

Que, el Bachiller en Farmacia y Bioquímica, Marco Polo Soto Huamaní, con fines de investigación científica, ha solicitado la certificación botánica de la planta conocida con el nombre común de "zarzamora", procedente de un cultivo en el distrito de Santa Eulalia, Provincia de Huarochiri, Departamento de Lima, a una altitud de 2800 msnm. La muestra ha sido determinada científicamente como *Rubus glaucus Benth.* En el Sistema de Cronquist, ocupa las siguientes categorías taxonómicas.

REINO	: Plantae
DIVISIÓN	: Magnoliophyta
CLASE	: Magnoliopsida
SUBCLASE	: Rosidae
ORDEN	: Rosales
FAMILIA	: Rosaceae
GENERO	: <i>Rubus</i>
ESPECIE	: <i>Rubus glaucus Benth.</i>

Nombre común: "zarzamora".

Se expide la presente certificación para fines de investigación científica.

Lima, 18 de enero del 2013




José R. Campos De La Cruz
BIOLOGO
C.B.P. Nº 3796

Jr. Sánchez Silva # 156 – Urb. Santa Luzmila - Lima 07.

8.4. FOTOS DEL MATERIAL BIOLOGICO



Figura N°4. Penca y fruta del *Opuntia soherensii*



Figura N°5. *Rubus glaucus* B.



Figura N°6. Fruto del *Zea mays* L.



Figura N°7. Extracto seco de la coronta del *Zea mays* L.



Figura N°8. Extracto seco del fruto del *Rubus glaucus* B.



Figura N°9. Resultados del screening fitoquímico.

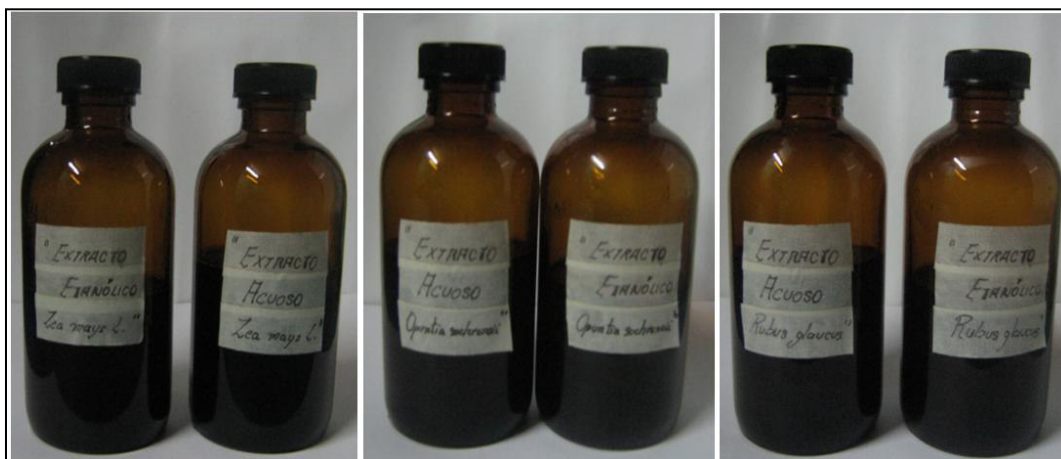


Figura N°10. Extractos acuosos y alcohólicos de los frutos del maíz morado *Zea mays* L., mora *Rubus glaucus* y ayrampo *Opuntia soehrensii*.



Figura N°11. Material biológico. Cepas

8.5. MATERIALES DE LABORATORIO, EQUIPOS Y REACTIVOS

8.5.1 Materiales de laboratorio

Vasos de precipitados: 100, 250 y 500 mL.

Matraz Erlenmeyer.

Tubos de ensayo.

Probeta de 10 y 100 mL.

Cuba cromatográfica.

Placa de toque.

Cápsula de porcelana.

Mortero.

Pipetas de 1, 5 y 10 mL.

Pipetas Pasteur.

Micropipetas de 200, 1000 y 5000 μ L.

Tips de micropipetas.

Mechero Bunsen.

8.5.2 Equipos

Estufa acoplada a un termómetro Labor Műszeripari Művek (Esztergom) modelo 68-33884 a 40°C.

Refrigeradora Samsung Modelo RS21HKLMR a 4°C.

Lámpara UV 254 nm reveladora de placas cromatográficas.

Balanza analítica Mettler Toledo AL204.

8.5.3 Reactivos

Alcohol etílico

Alcohol metílico

Reactivo de Cloruro férrico (FeCl_3)

Solución de gelatina al 1%.

Reactivo de Shinoda.

Reactivo de Dragendorff.

Reactivo de Mayer.

Reactivo de Popoff.

Reactivo de Bertrand.

Reactivo de Ninhidrina.

Reactivo de Liebermann-Burchard.

Reactivo de Fehling.

Vapores de Iodo.

Ácido tricloroacético (TCA) al 10%.

Reactivo Folin –Ciocalteu Sigma.

Alcohol etílico

Alcohol metílico

8.5.4 Medios

Agar Tripticasa Soya (TSA) Merck

Agar Mueller Hinton (MH)

8.6. ENTIDADES DONDE SE DESARROLLÓ LA INVESTIGACIÓN.

La obtención del extracto y los ensayos fitoquímicos, se desarrollaron en el laboratorio de Química Orgánica, del Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales “Juan de Dios Guevara” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM. El análisis de la actividad antibacteriana y antifúngica se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica – UNMSM. La elaboración del gel de limpieza cutánea se realizará en el laboratorio de Farmacotecnia, del Departamento Académico de Farmacotecnia y Administración Farmacéutica.

8.7. FOTOS DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIFÚNGICA

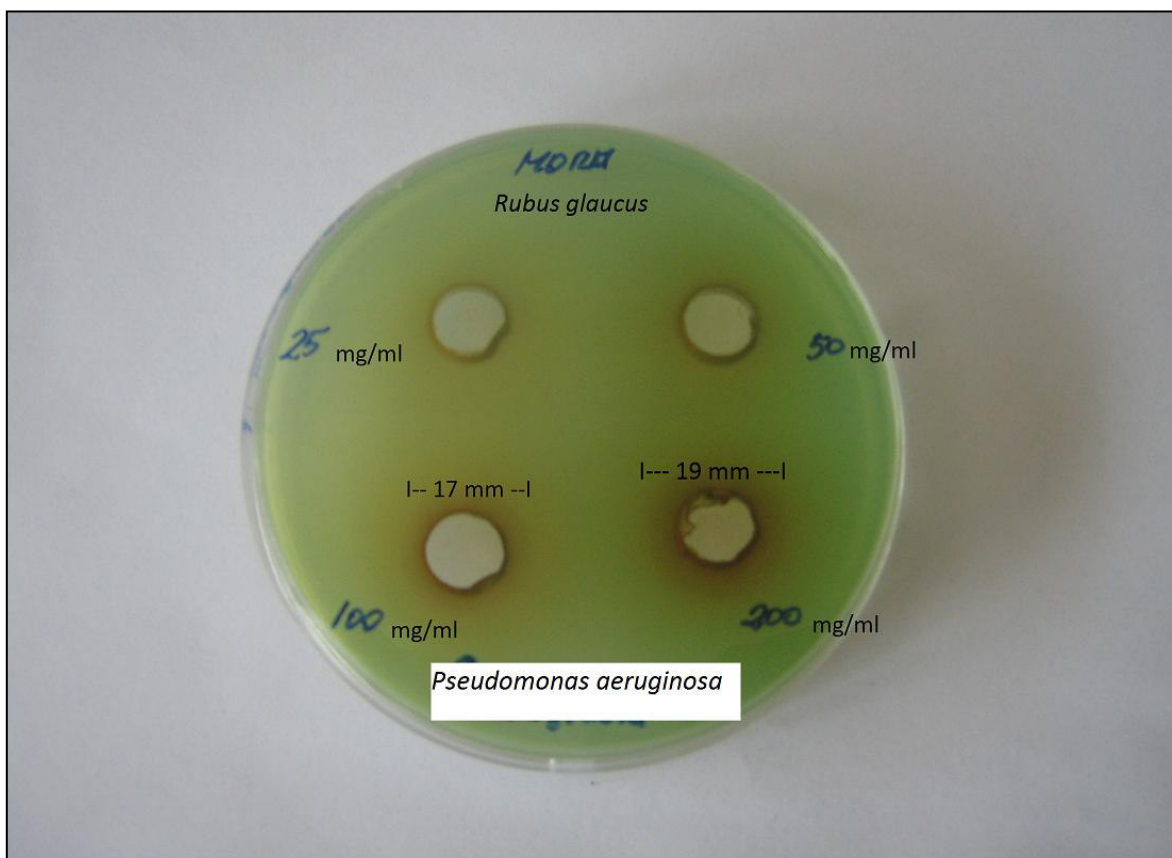


Figura N°12. Formación de halos con el extracto seco (obtenido por extracción acuosa) de la mora *Rubus glaucus* por el método de difusión en agar. Teniendo como cepa a la *Pseudomonas aeruginosa*

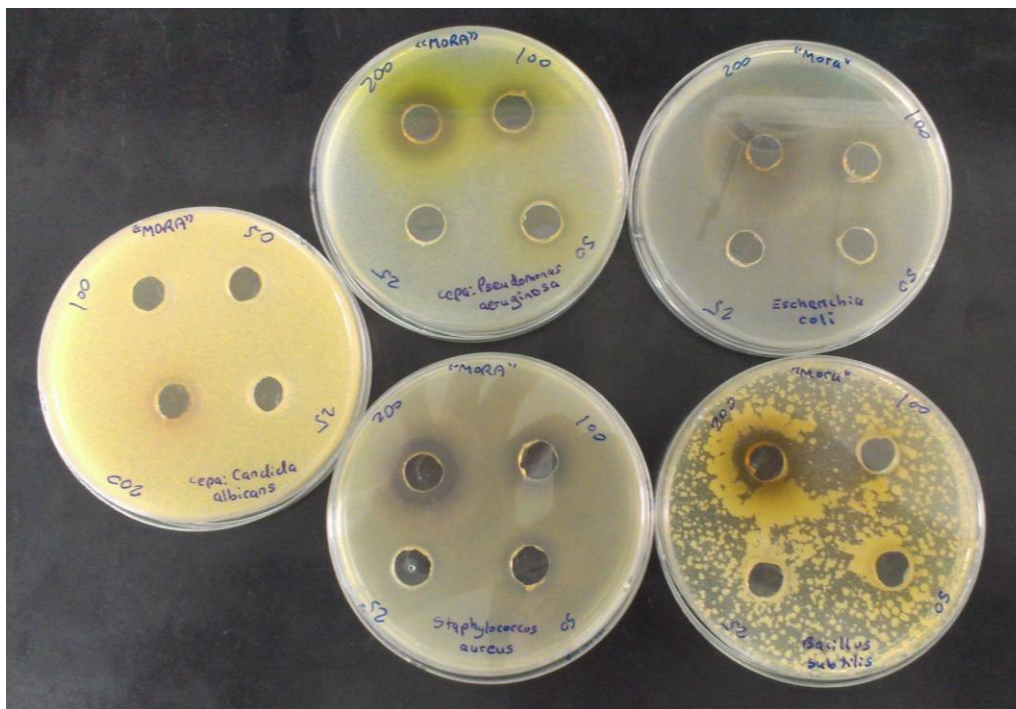


Figura N°13. Formación de halos con el extracto seco (obtenido por extracción alcohólica) de la mora *Rubus glaucus* por el método de difusión en agar.

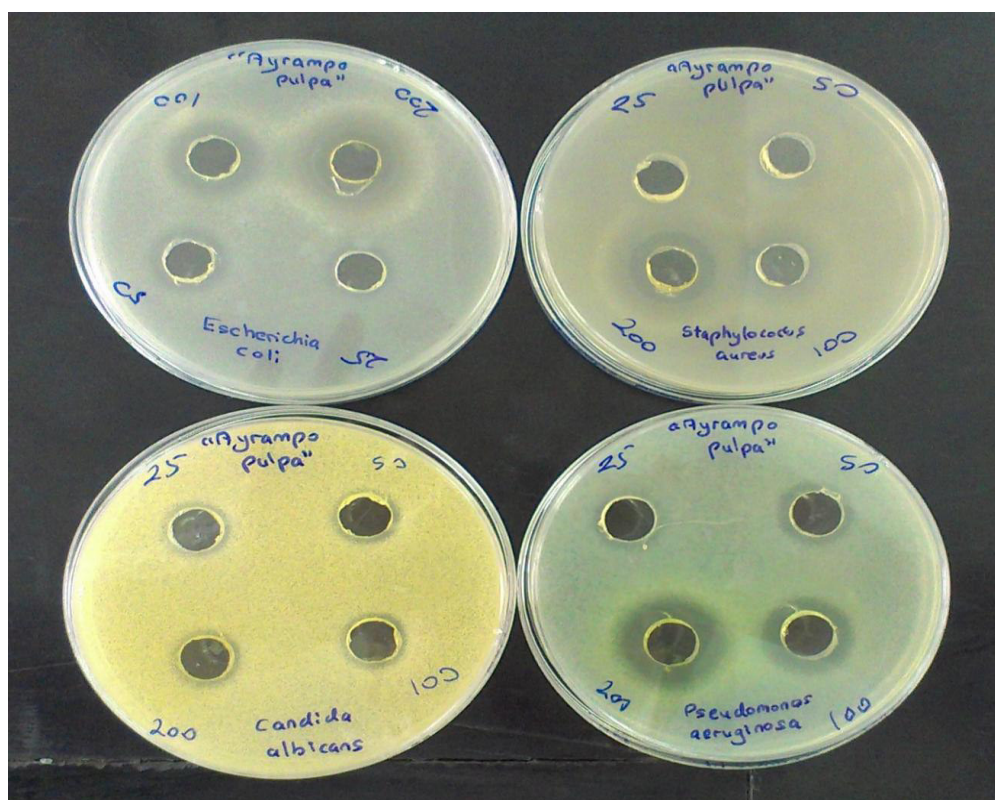


Figura N°14. Formación de halos con el extracto seco (obtenido por extracción alcohólica) del ayrampo *Opuntia soehrensii* por el método de difusión en agar.

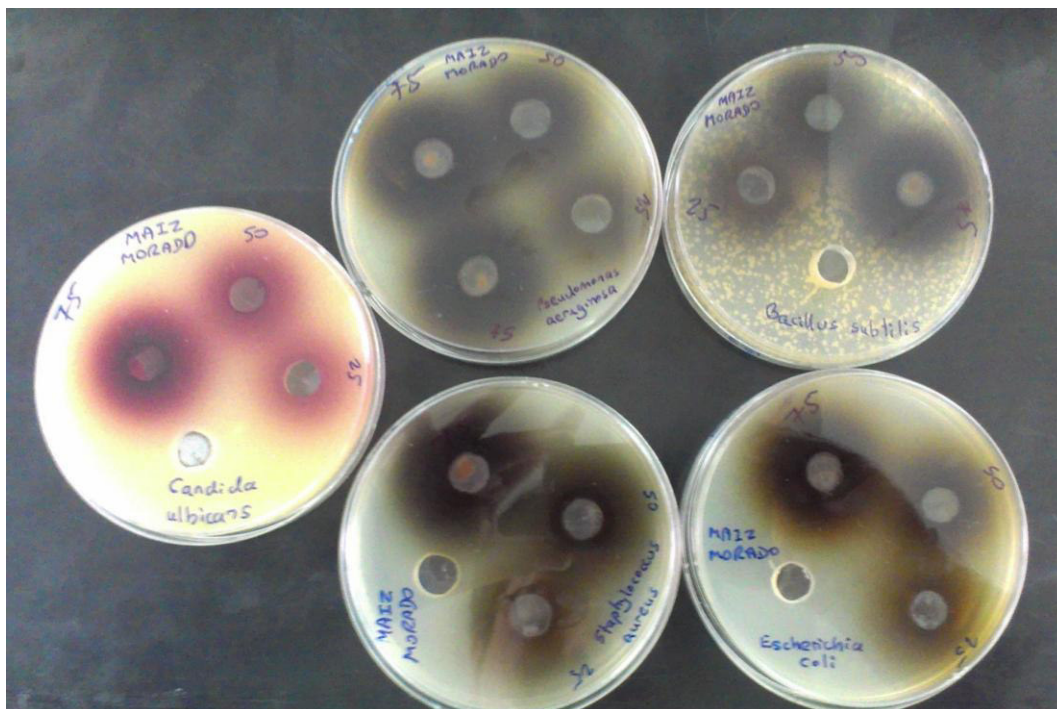


Figura N°15. Formación de halos con el extracto seco (obtenido por extracción alcohólica) del maíz morado *Zea Mays L.* por el método de difusión en agar.

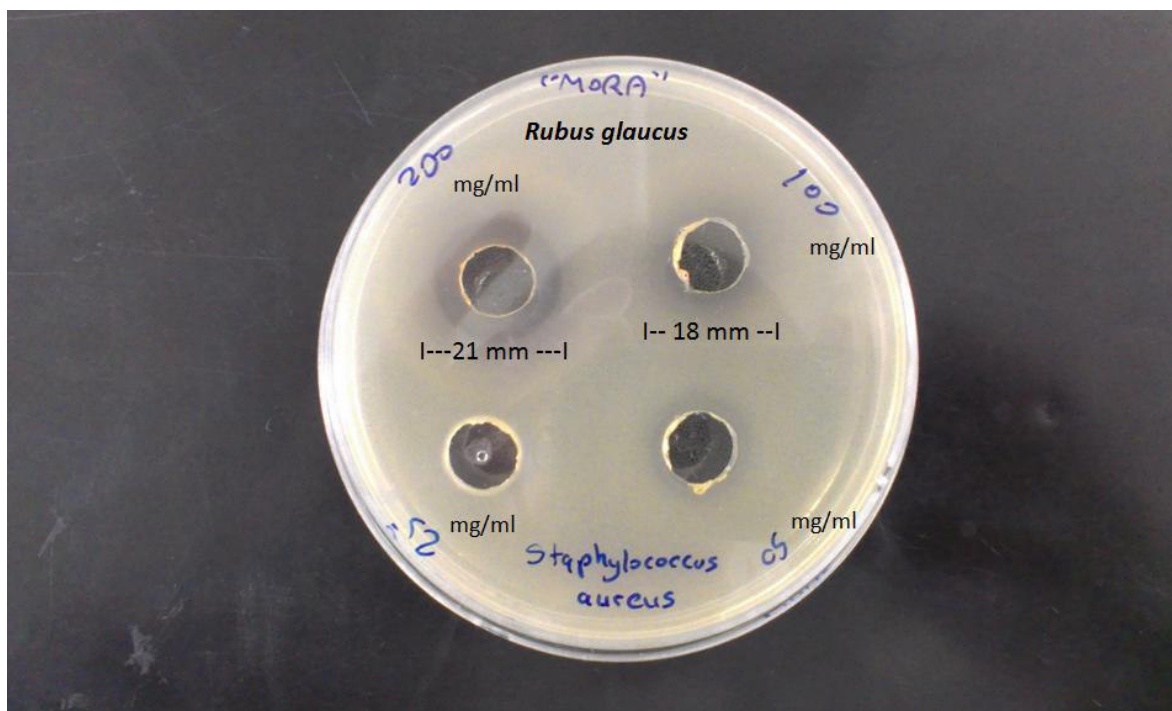


Figura N°16. Formación de halos con el extracto seco (obtenido por extracción alcohólica) de la mora *Rubus glaucus* por el método de difusión en agar. Teniendo como cepa al *Staphylococcus aureus*.

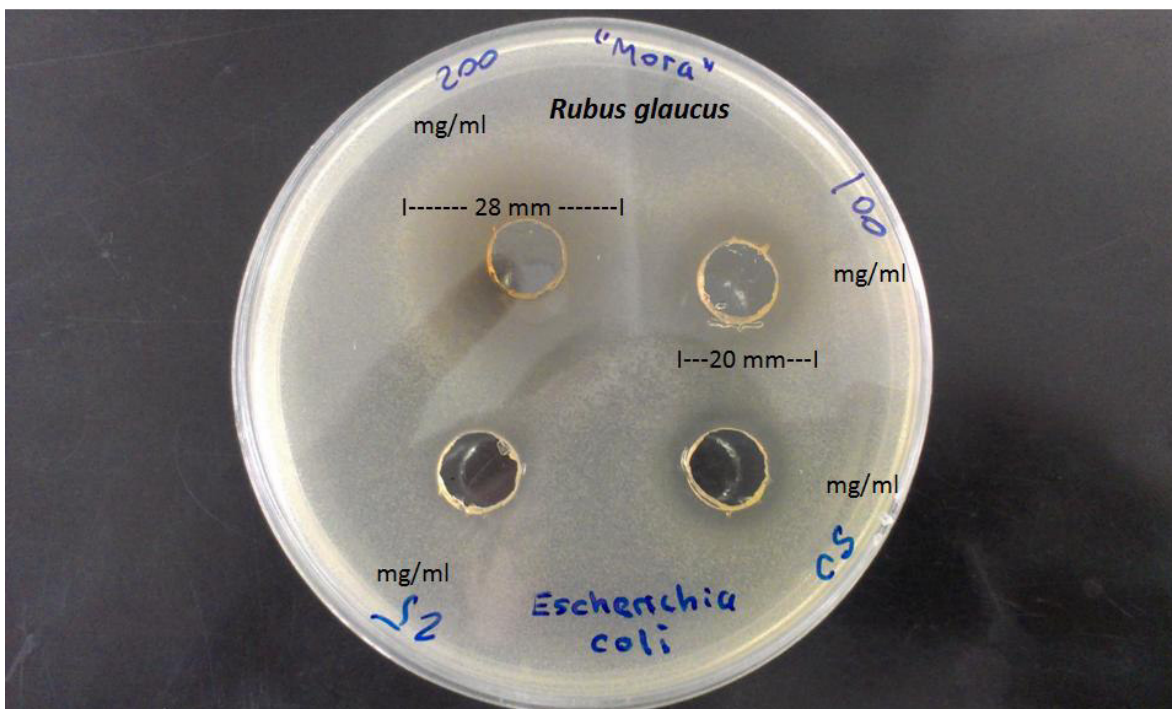


Figura N°17. Formación de halos con el extracto seco (obtenido por extracción alcohólica) de la mora *Rubus glaucus* por el método de difusión en agar. Teniendo como cepa a la *Escherichia coli*.

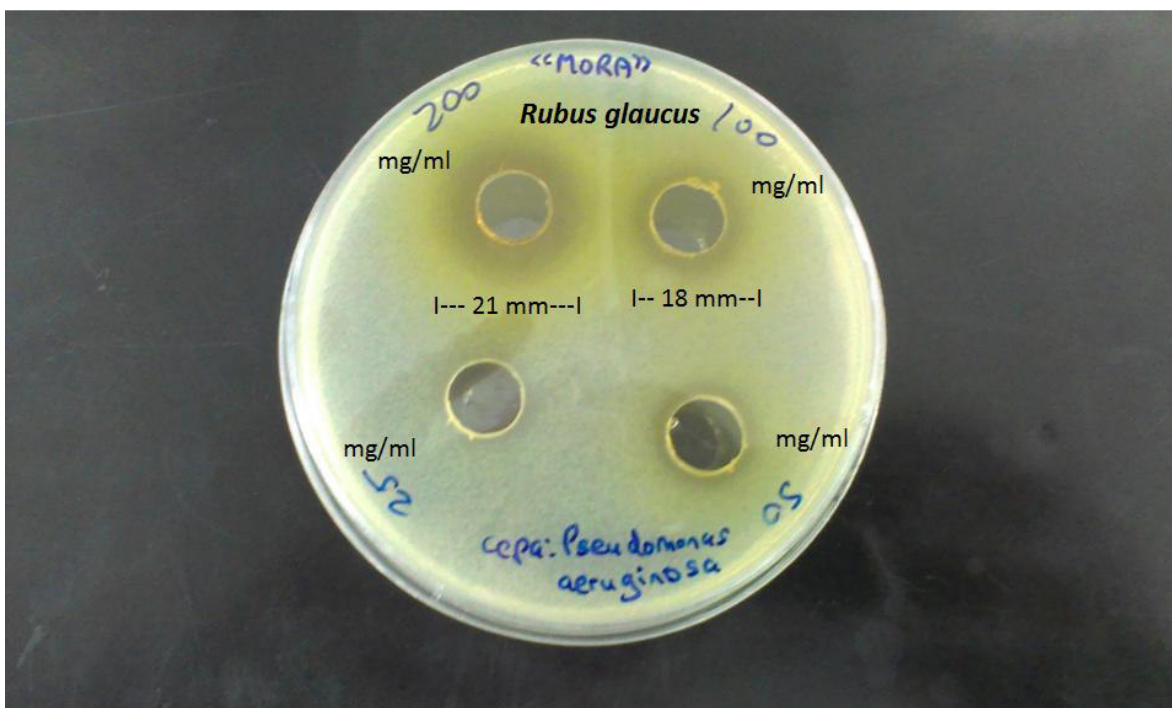


Figura N°18. Formación de halos con el extracto seco (obtenido por extracción alcohólica) de la mora *Rubus glaucus* por el método de difusión en agar. Teniendo como cepa a la *Pseudomonas aeruginosa*.

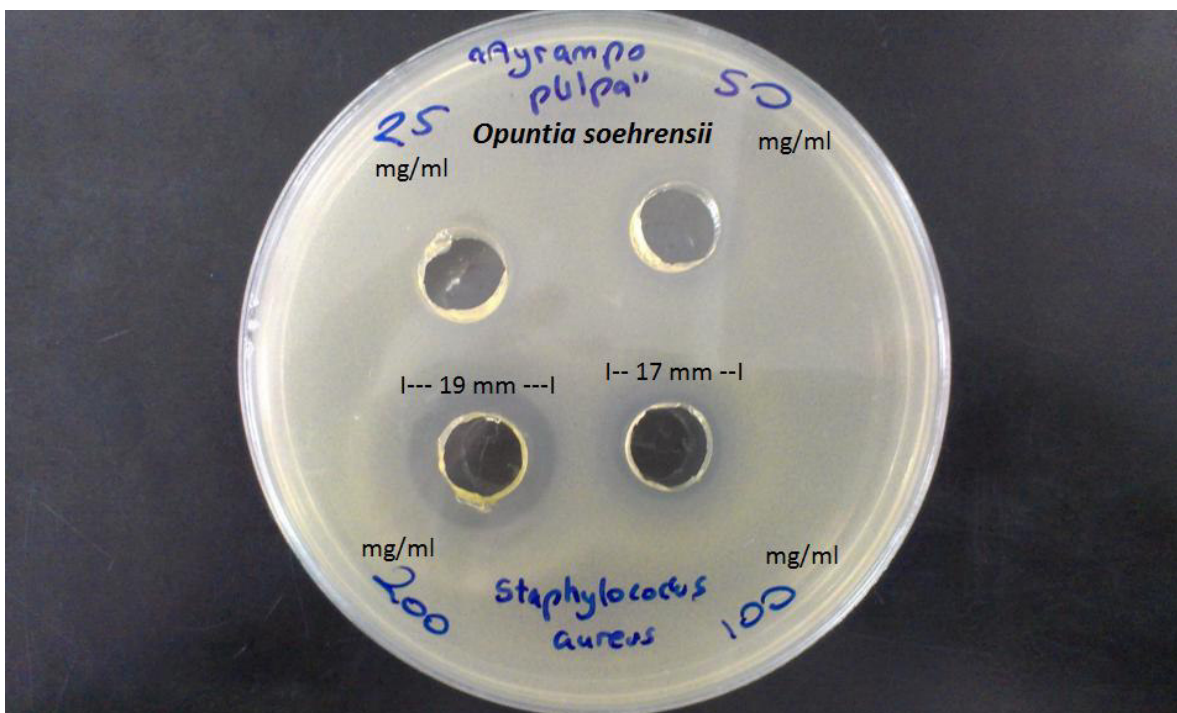


Figura N°19. Formación de halos con el extracto seco (obtenido por extracción alcohólica) del ayrampo *Opuntia soehrensii* por el método de difusión en agar. Teniendo como cepa al *Staphylococcus aureus*.

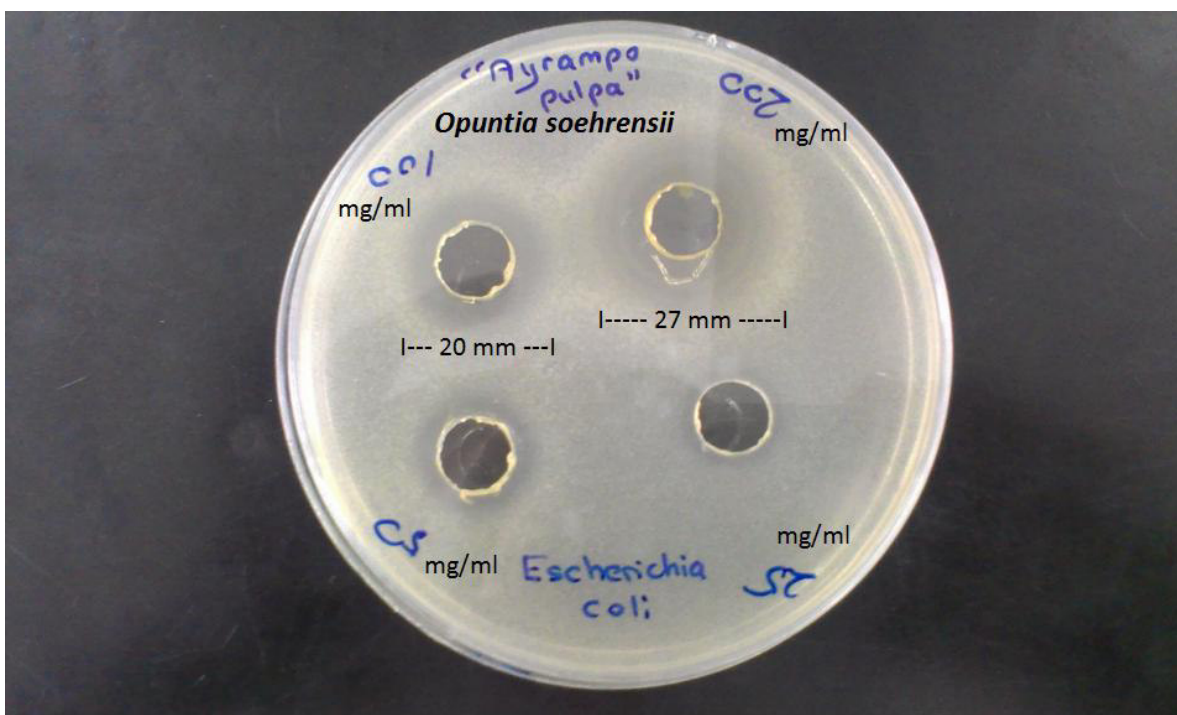


Figura N°20. Formación de halos con el extracto seco (obtenido por extracción alcohólica) del ayrampo *Opuntia soehrensii* por el método de difusión en agar. Teniendo como cepa a la *Escherichia coli*.

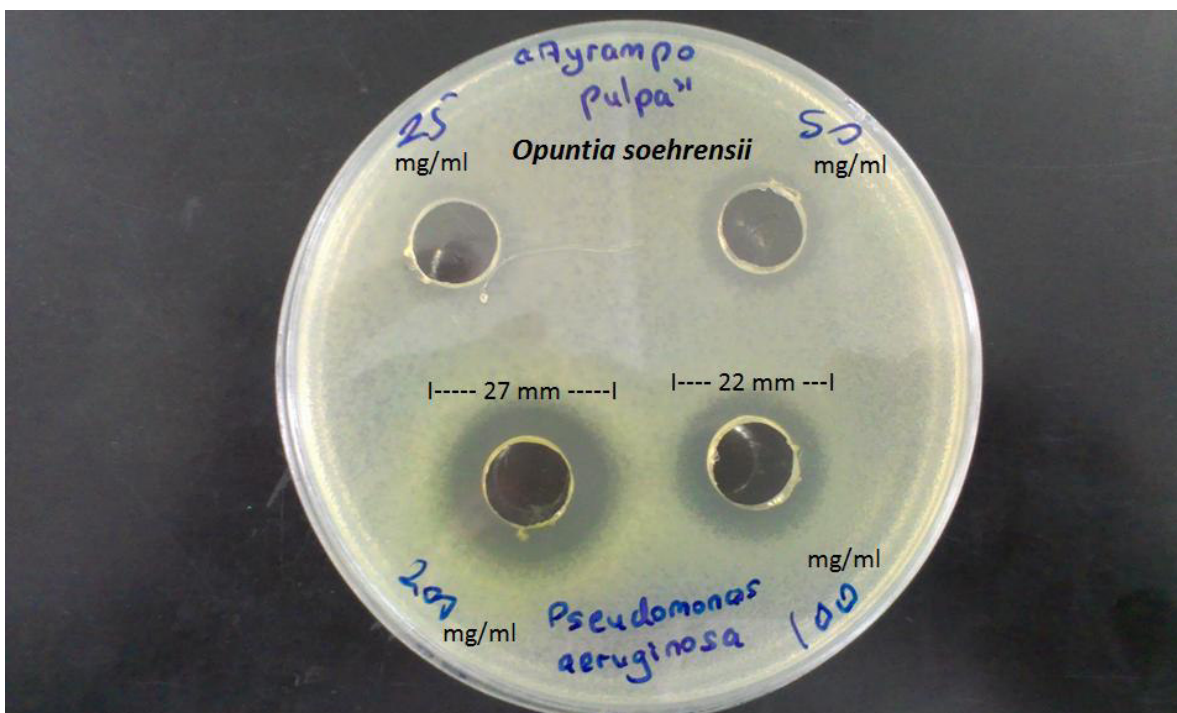


Figura N°21. Formación de halos con el extracto seco (obtenido por extracción alcohólica) del ayrampo *Opuntia soehrensii* por el método de difusión en agar. Teniendo como cepa a la *Pseudomonas aeruginosa*.

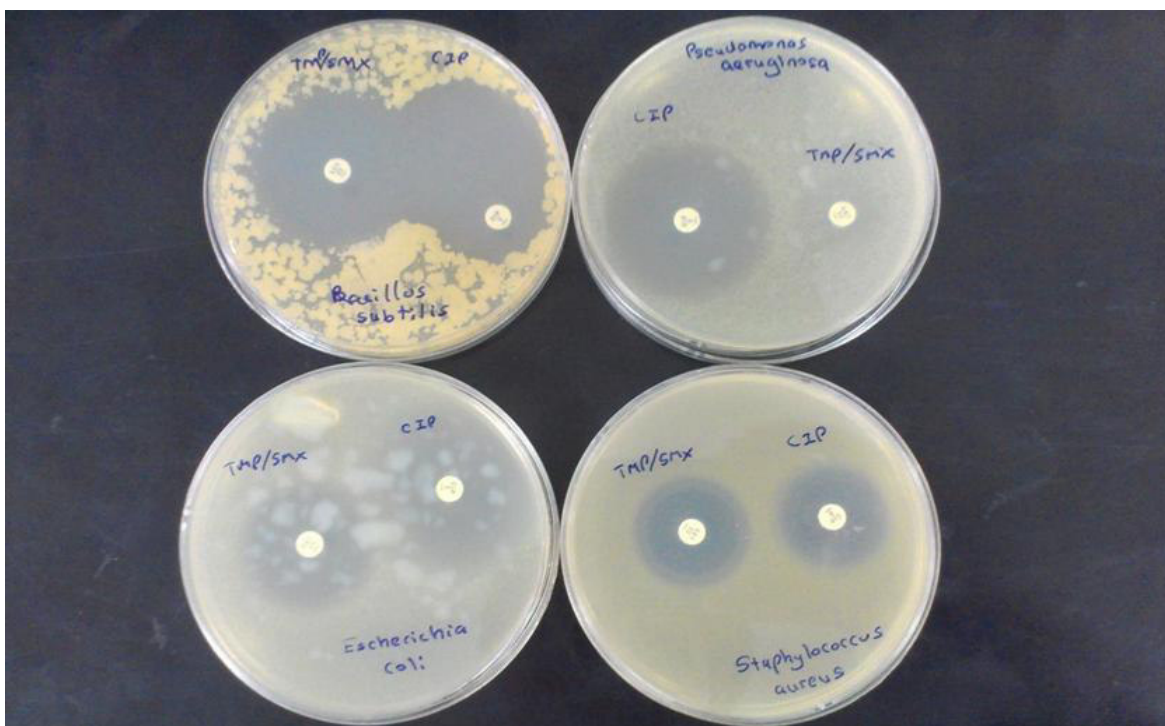


Figura N°22. Formación de halos con los controles (TMP – SMX 25µ/disco y Ciprofloxacino 5 µ/disco)

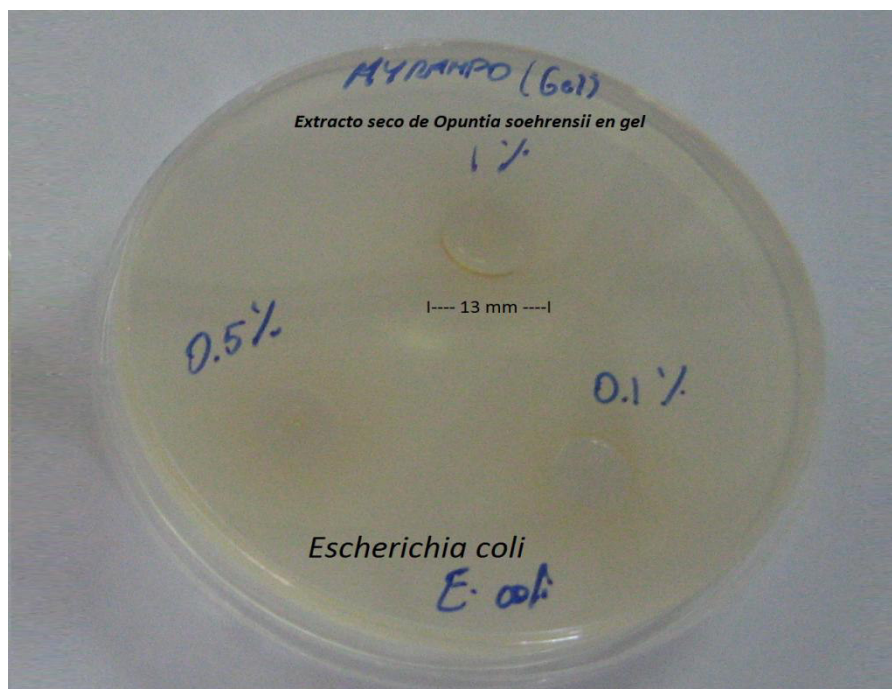


Figura N°23. Formación de halos con el gel a base del extracto seco (obtenido por extracción acuosa) del ayrampo *Opuntia soehrensii* por el método de difusión en agar. Teniendo como cepa a la *Escherichia coli*

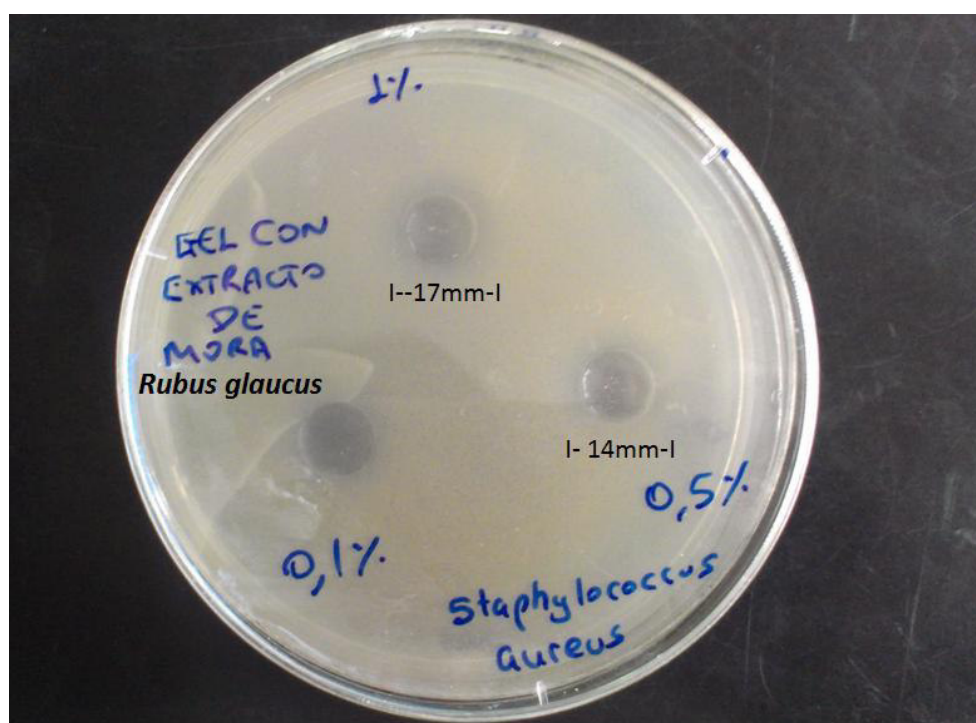


Figura N°24. Formación de halos con el gel a base del extracto seco (obtenido por extracción alcohólica) de la mora *Rubus glaucus* por el método de difusión en agar. Teniendo como cepa al *Staphylococcus aureus*.



Figura N°25. Formación de halos con el gel a base del extracto seco (obtenido por extracción alcohólica) de la mora *Rubus glaucus* por el método de difusión en agar. Teniendo como cepa la *Escherichia coli*

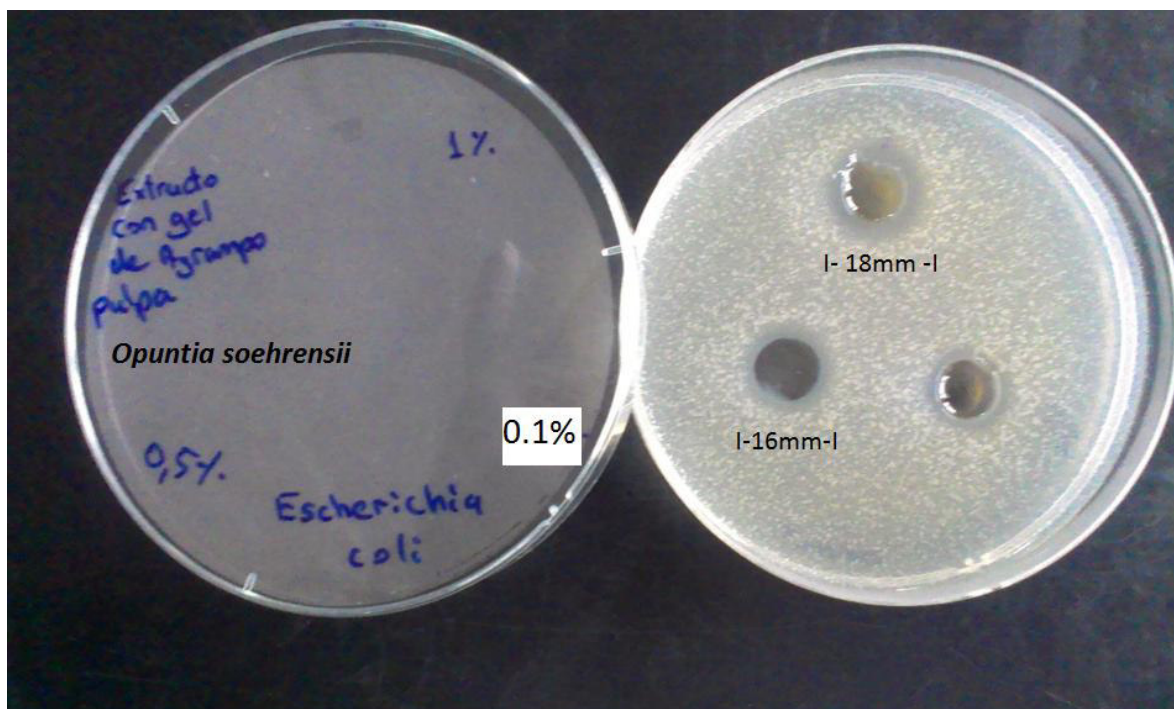


Figura N°26. Formación de halos con el gel a base del extracto seco (obtenido por extracción alcohólica) del ayraimo *Opuntia soherensii* por el método de difusión en agar. Teniendo como cepa a la *Escherichia coli*

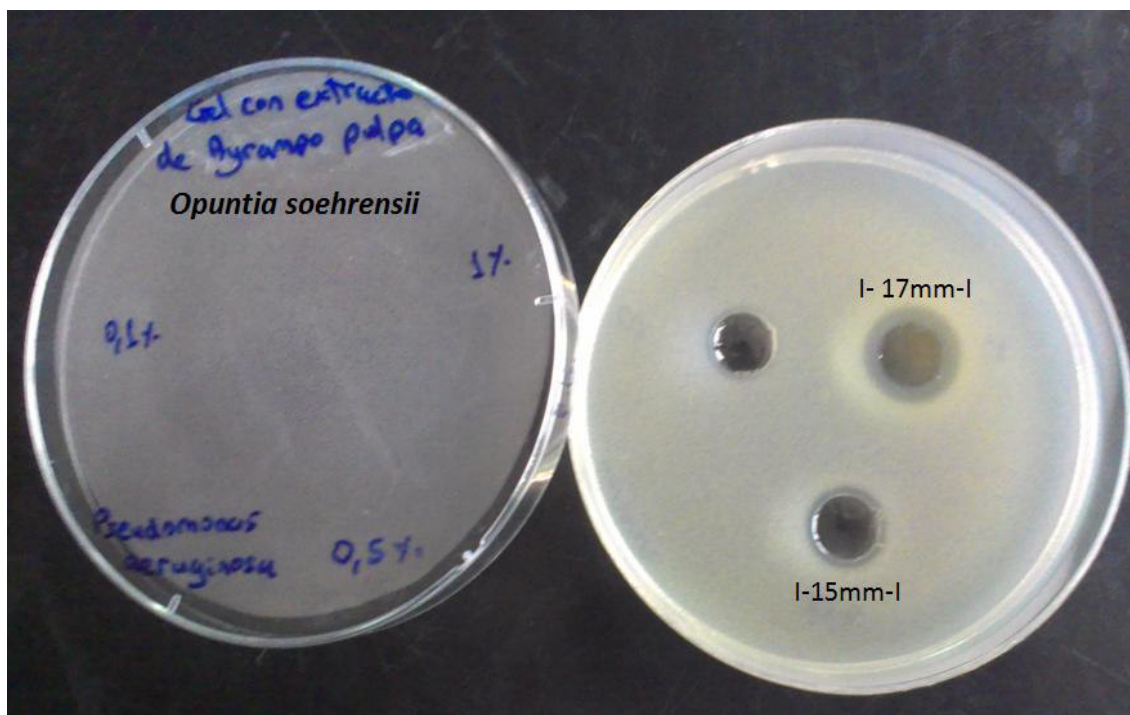


Figura N°27. Formación de halos con el gel a base del extracto seco (obtenido por extracción alcohólica) del ayraimo *Opuntia soehrensii* por el método de difusión en agar. Teniendo como cepa a la *Pseudomonas aeruginosa*

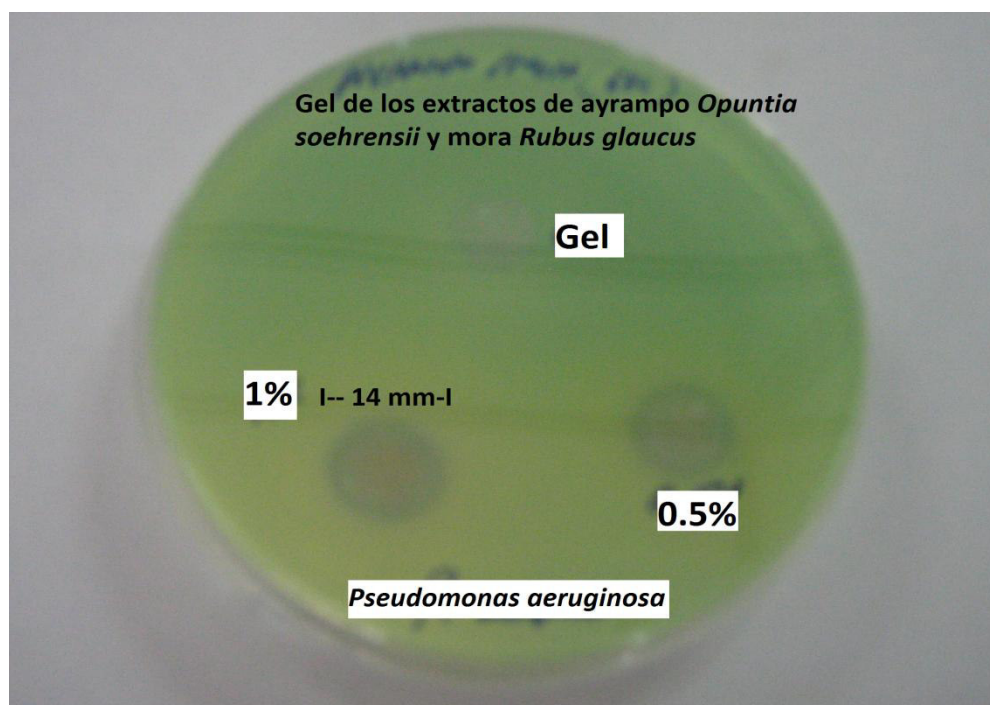


Figura N°28. Formación de halos con el gel a base del extractos secos (obtenido por extracción acuosa) del ayraimo *Opuntia soehrensii* y mora *Rubus glaucus* por el método de difusión en agar. Teniendo como cepa a la *Pseudomonas aeruginosa*.

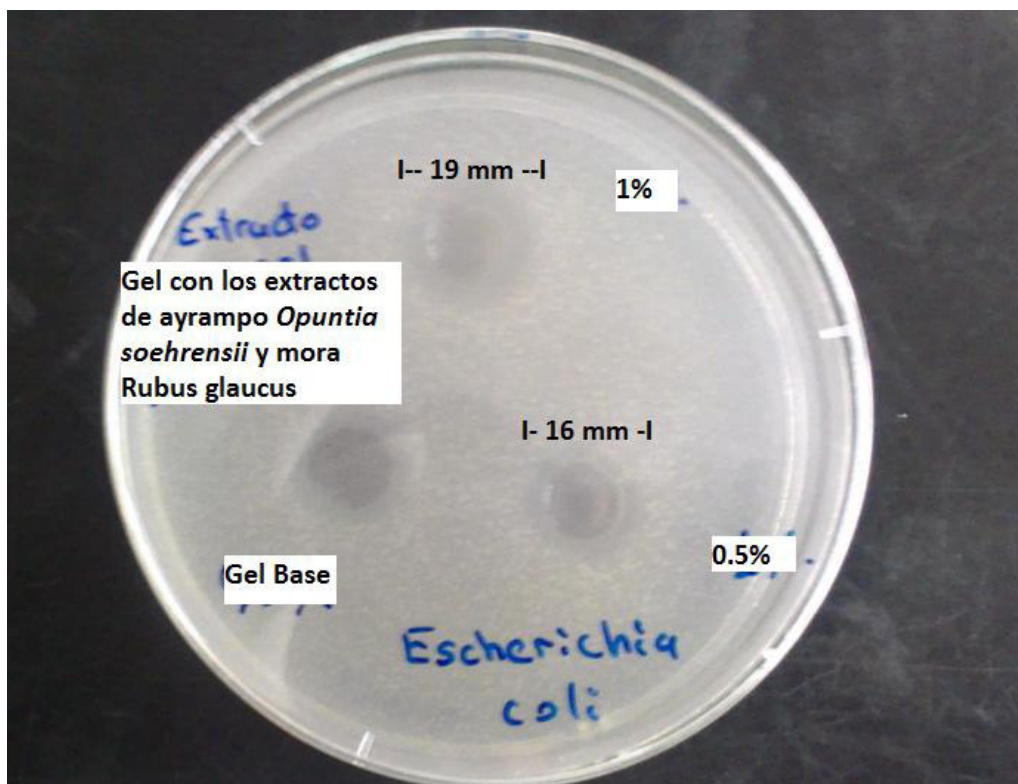


Figura N°29. Formación de halos con el gel a base de los extractos secos (obtenido por extracción alcohólica) del ayrampo *Opuntia soehrensii* y mora *Rubus glaucus* por el método de difusión en agar. Teniendo como cepa a la *Escherichia coli*.

8.8. FOTOS DEL GEL BASE Y PRUEBA DE EXTENSIBILIDAD



Figura N°30. Gel base.



Figura N°31. Geles elaborados con los extractos de los frutos de la mora *Rubus glaucus B.*, maíz morado *Zea Mays L.* y ayramon *Opuntia soehrensii*.



Figura N°32. Prueba de extensibilidad

8.9. RELACIÓN DE DATOS OBTENIDOS EN LAS PRUEBAS PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

8.9.1. Con las diluciones del extracto seco obtenido por extracción acuosa.

Tabla N°20. Resultados de los diámetros de los Halos de Inhibición de crecimiento bacteriano haciendo uso de los extractos secos obtenidos por extracción acuosa de los frutos del *Zea Mays L.* (Maíz Morado), *Rubus glaucus* (mora); *Opuntia soehrensii* (ayrampo) mediante el método de difusión en agar.

Resultados de los diámetros de los halos de Inhibición de Crecimiento Bacteriano (mm)															
Muestra	Microorganismos														
Extractos de los frutos	<i>Bacillus subtilis</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Echerichia coli</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			<i>Candida albicans</i>		
	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba
<i>Zea Mays L.</i> (Maíz Morado) 25mg/ml	NP	NP	NP	12	13	12	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
<i>Zea Mays L.</i> (Maíz Morado) 50 mg/ml	NP	NP	NP	13	13	15	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
<i>Zea Mays L.</i> (Maíz Morado) 100 mg/ml	NP	NP	NP	14	15	14	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
<i>Zea Mays L.</i> (Maíz Morado) 200 mg/ml	NP	NP	NP	15	16	14	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 25 mg/ml	NP	NP	NP	NP	NP	NP	12	12	13	12	12	12	NP	NP	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 50 mg/ml	NP	NP	NP	NP	NP	NP	13	14	13	13	14	13	NP	NP	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 100 mg/ml	NP	NP	12	13	14	15	15	16	16	17	18	17	NP	NP	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 200 mg/ml	NP	NP	13	17	17	16	17	17	16	19	19	19	NP	NP	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 25 mg/ml	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 50 mg/ml	NP	NP	NP	13	13	13	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 100 mg/ml	NP	NP	NP	13	13	14	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 200 mg/ml	NP	NP	NP	15	17	16	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
Controles	<i>Bacillus subtilis</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Echerichia coli</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			<i>Candida albicans</i>		
Agua Destilada	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TMP – SMX 25µ/disco	38	40	36	36	37	36	38	36	37	34	43	44	NP	NP	NP
Ciprofloxacino 5 µ/disco	40	41	40	30	32	38	38	38	44	35	34	38	NP	NP	NP
Fluconazol 16 µg/disco.	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	25	25	29

Leyenda: NP: No presento halo. Actividad antibacteriana significativa (>18 mm)

8.9.2. Con las diluciones del extracto seco obtenido por extracción alcohólica.

Tabla N°21. Resultados de los diámetros de los Halos de Inhibición de crecimiento bacteriano haciendo uso de los extractos secos obtenidos por extracción alcohólica de los frutos del *Zea Mays L.* (Maíz Morado), *Rubus glaucus* (mora); *Opuntia soehrensii* (ayrampo) mediante el método de difusión en agar.

Resultados de los diámetros de los halos de Inhibición de Crecimiento Bacteriano (mm)															
Muestra	Microorganismos														
Extractos de los frutos	<i>Bacillus subtilis</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Echerichia coli</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			<i>Candida albicans</i>		
	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba
<i>Zea Mays L.</i> (Maíz Morado) 25mg/ml	NP	NP	NP	14	13	12	NP	NP	NP	14	12	13	12	12	13
<i>Zea Mays L.</i> (Maíz Morado) 50 mg/ml	NP	NP	NP	16	15	16	NP	NP	NP	14	15	14	12	13	13
<i>Zea Mays L.</i> (Maíz Morado) 100 mg/ml	NP	NP	NP	21	19	19	NP	NP	NP	14	14	15	13	13	13
<i>Zea Mays L.</i> (Maíz Morado) 200 mg/ml	NP	NP	NP	21	21	21	NP	NP	NP	14	16	18	15	14	13
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 25 mg/ml	NP	NP	NP	12	12	13	12	13	13	13	12	13	NP	NP	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 50 mg/ml	NP	NP	NP	14	15	15	15	17	16	16	16	16	NP	NP	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 100 mg/ml	NP	NP	NP	18	18	18	20	19	19	18	18	18	NP	NP	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 200 mg/ml	NP	NP	13	21	20	20	28	27	27	21	20	20	NP	NP	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 25 mg/ml	NP	NP	NP	NP	NP	NP	13	14	14	NP	NP	NP	12	13	12
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 50 mg/ml	NP	NP	NP	14	15	15	16	16	17	16	17	17	13	13	13
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 100 mg/ml	NP	NP	NP	16	16	17	20	21	20	21	21	22	14	15	14
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 200 mg/ml	NP	NP	13	19	19	19	27	26	26	26	27	27	15	15	14
Controles	<i>Bacillus subtilis</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Echerichia coli</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			<i>Candida albicans</i>		
Etanol 96°	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TMP – SMX 25µ/disco	42	40	40	26	27	29	24	29	32	35	43	44	NP	NP	NP
Ciprofloxacino 5 µ/disco	30	32	30	24	26	25	27	29	30	36	40	38	NP	NP	NP
Fluconazol 16 µg/disco.	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	25	26	29

Leyenda: NP: No presento halo. Actividad antibacteriana significativa (>18 mm)

8.9.3. Gel con la adición del extracto seco obtenido por extracción acuosa.

Tabla N°22. Resultados de los diámetros de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano del gel base con los extractos secos (obtenidos por extracción acuosa) del *Rubus glaucus* (mora andina) y *Opuntia soherensii* (ayrampo) a una concentración del 0.1%, 0.5% y al 1%.

Resultados de los diámetros de los halos de Inhibición de Crecimiento Bacteriano (mm)												
Muestra	Microorganismos											
Extractos de los frutos	Staphylococcus aureus			Echerichia coli			Pseudomonas aeruginosa			Candida albicans		
	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 0.1%	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 0.5%	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 1%	NP	NP	NP	13	13	13	NP	NP	NP	NP	NP	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 0.1%	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 0.5%	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 1%	NP	NP	NP	13	13	13	12	13	12	NP	NP	NP
Controles	Staphylococcus aureus			Echerichia coli			Pseudomonas aeruginosa			Candida albicans		
Gel base	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TMP – SMX 25µ/disco	37	40	36	40	35	39	38	43	42	NP	NP	NP
Ciprofloxacino 5 µ/disco	34	32	40	39	41	44	34	37	39	NP	NP	NP
Fluconazol 25 µg/disco.	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	27	25	28

Leyenda: NP: No presento halo. Actividad antibacteriana significativa (>18 mm)

8.9.4. Gel con la adición del extracto seco obtenido por extracción alcohólica.

Tabla N°23. Resultados de los diámetros de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano del gel base con los extractos secos (obtenidos por extracción alcohólica) del *Rubus glaucus* (mora andina) y *Opuntia soherensii* (ayrampo) a una concentración del 0.1%, 0.5% y al 1%.

Resultados de los diámetros de los halos de Inhibición de Crecimiento Bacteriano (mm)												
Muestra	Microorganismos											
Extractos de los frutos	Staphylococcus aureus			Echerichia coli			Pseudomonas aeruginosa			Candida albicans		
	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 0.1%	13	13	14	14	14	14	13	13	13	NP	NP	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 0.5%	14	14	14	15	16	16	14	14	13	NP	NP	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 1%	16	16	17	17	16	17	16	15	15	NP	NP	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 0.1%	13	13	13	13	13	13	13	13	13	NP	NP	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 0.5%	14	14	15	16	16	16	15	16	15	NP	NP	NP
<i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 1%	16	16	16	18	18	18	17	17	17	NP	NP	NP
Controles	Staphylococcus aureus			Echerichia coli			Pseudomonas aeruginosa			Candida albicans		
Gel base	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TMP – SMX 25µ/disco	35	38	40	36	35	30	40	43	42	NP	NP	NP
Ciprofloxacino 5 µ/disco	30	32	32	32	33	34	40	37	36	NP	NP	NP
Fluconazol 25 µg/disco.	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	28	28	28

Leyenda: NP: No presento halo. Actividad antibacteriana significativa (>18 mm)

8.9.5. Gel con la adición de los extractos secos del *Rubus glaucus* (mora andina) y *Opuntia soherensii* (ayrampo) obtenido por extracción acuosa.

Tabla N°24. Resultados de los diámetros de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano del gel base con la mezcla de los extractos secos (obtenidos por extracción acuosa) del *Rubus glaucus* (mora andina) y *Opuntia soherensii* (ayrampo) a una concentración del 0.1%, 0.5% y al 1%.

Resultados de los diámetros de los halos de Inhibición de Crecimiento Bacteriano (mm)												
Muestra	Microorganismos											
Extractos de los frutos	<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Echerichia coli</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			<i>Candida albicans</i>		
	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 0.1% + <i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 0.1%	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 0.5% + <i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 0.5%	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 1% + <i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 1%	NP	NP	NP	NP	13	13	13	14	14	NP	NP	NP
Controles	<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Echerichia coli</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			<i>Candida albicans</i>		
Gel base	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Leyenda: NP: No presento halo. Actividad antibacteriana significativa (>18 mm)

8.9.6. Gel con la adición de los extractos secos del *Rubus glaucus* (mora andina) y *Opuntia soherensii* (ayrampo) obtenido por extracción alcohólica.

Tabla N°25. Resultados de los diámetros de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano del gel base con la mezcla de los extractos secos (obtenidos por extracción alcohólica) del *Rubus glaucus* (mora andina) y *Opuntia soherensii* (ayrampo) a una concentración del 0.1%, 0.5% y al 1%.

Leyenda: NP: No presento halo. Actividad antibacteriana significativa (>18 mm)

Resultados de los diámetros de los halos de Inhibición de Crecimiento Bacteriano (mm)												
Muestra	Microorganismos											
Extractos de los frutos	<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Echerichia coli</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			<i>Candida albicans</i>		
	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba	1era Prueba	2da Prueba	3era Prueba
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 0.1% + <i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 0.1%	13	14	14	14	15	14	13	13	14	NP	NP	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 0.5% + <i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 0.5%	14	15	15	16	16	16	16	16	15	NP	NP	NP
<i>Rubus glaucus</i> (mora) 1% + <i>Opuntia soherensii</i> (ayrampo) 1%	17	17	17	19	18	18	17	17	18	14	15	14
Controles	<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Echerichia coli</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			<i>Candida albicans</i>		
Gel base	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0